

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**“CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO DE LA
ENFERMEDAD CELÍACA Y GRADACIÓN DEL
RIESGO EN NIÑOS ESPAÑOLES”**

Autor:

Eva Martínez-Ojínaga Nodal

Directores:

Dra. M^a Isabel Polanco Allué

Dra. M^a Concepción Núñez Pardo de Vera

Año 2017

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	
ABREVIATURAS.....	
RESUMEN	
ABSTRACT	
1.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.- DEFINICIÓN ACTUAL.....	3
1.2.- EPIDEMIOLOGÍA.....	4
1.3.- ETIOLOGÍA.....	6
1.3.1.- Gluten.....	7
1.3.2.- Factores genéticos.	7
1.3.3.- Otros factores ambientales.....	10
1.4.- PATOGÉNESIS.....	12
1.5.- PRESENTACIÓN CLÍNICA.....	16
1.5.1.- Nuevos conceptos: el consenso de Oslo.....	16
1.5.2.- Sintomatología	19
1.5.3.- Grupos de riesgo	23
1.5.4.- Complicaciones	26
1.6.- DIAGNÓSTICO	28
1.6.1.- Criterios diagnósticos.....	28
1.6.2.- Determinación de marcadores serológicos	29
1.6.3.- Biopsia duodenoyeyunal.....	32
1.7.- TRATAMIENTO	34
1.7.1.- Repercusión	35
1.7.2.- Seguimiento	36
1.8- SENSIBILIDAD AL GLUTÉN NO CELÍACA Y TRASTORNOS RELACIONADOS	36

2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	39
2.1 HIPÓTESIS	41
2.2 OBJETIVOS PRINCIPALES	41
2.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	41
3.- MATERIAL Y MÉTODOS	43
3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	45
3.2 POBLACIÓN ESTUDIADA.....	45
3.2.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA	45
3.2.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	46
3.2.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	46
3.3 PROTOCOLO DE ESTUDIO.....	46
3.4 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA	50
3.4.1 ANÁLISIS DE RIESGO HLA.....	50
3.4.2 COMPARACIONES GENÉTICO-CLÍNICAS	51
4-RESULTADOS	53
4.1.- GRADACIÓN DEL RIESGO A EC BASADO EN EL ESTUDIO HLA	55
4.1.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS GENOTIPOS HLA EN CASOS Y CONTROLES.....	55
4.1.2.- RIESGO DE EC ASOCIADO AL HLA-DQ	56
4.1.3.- RIESGO EN FUNCIÓN DE LA PREVALENCIA	59
4.1.4.- CATEGORÍAS DE RIESGO GENÉTICO	61
4.2.- COMPARACIONES GENÉTICO- CLÍNICAS	63
4.2.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS GENOTIPOS HLA	63
4.2.2- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACIÓN CELÍACA ESTUDIADA.....	64
4.2.3.- ASOCIACIÓN ENTRE VARIABLES	68
4.2.4.-ASOCIACIÓN ENTRE RIESGO HLA Y RESTO DE VARIABLES	74
4.2.5.- OTROS ASPECTOS.....	83

4.2.6.- MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA.....	84
5.- DISCUSIÓN.....	87
1.- RIESGO A EC EN FUNCIÓN DE LA GENÉTICA HLA.....	91
DQ2.5 con doble dosis de <i>HLA-DQB1*02</i>	91
DQ2.5 con única dosis de <i>HLA-DQB1*02</i>	92
DQ8.....	92
DQ2.2.....	93
DQ7.5.....	94
2.- ASOCIACIÓN ENTRE EL HLA Y LAS VARIABLES ANALIZADAS	96
SEXO	96
EDAD.....	97
PRESENTACIÓN CLÍNICA.....	98
SEROLOGÍA	99
BIOPSIA.....	101
FAMILIARIDAD	101
ENFERMEDADES ASOCIADAS	101
6.- CONCLUSIONES.....	103
7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	129
1.- TABLAS	129
2.- ÍNDICE DE FIGURAS	131

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. M^a Isabel Polanco, por haberme inculcado el interés por el apasionante tema de la enfermedad celíaca, porque me ha apoyado desde que era residente y confió en mi capacidad para sacar adelante este trabajo, que surge de los pacientes a los que ha dedicado su vida.

A la Dra. M^a Concepción Núñez, porque me ha enseñado a preparar un trabajo científico en condiciones, con rigor y exactitud. Gracias a sus conocimientos he aprendido mucho de Genética, de Estadística...de los aspectos que no están en los libros. Ha sido un placer trabajar contigo.

Sin vosotras esta tesis no hubiera sido posible. Mil gracias por dedicarme vuestro tiempo.

Al Dr. Molina, por haber estado supervisando todo “en la sombra”. Ojalá me hubieran dejado ponerte a ti también como director. Gracias porque siempre has estado ahí para cualquier tema personal y profesional.

Al Dr. Martín Esteban, por facilitarme sus datos y conocimientos sobre marcadores serológicos en la enfermedad celíaca.

A Rosalía y a Piedad, por buscarme las historias de hace casi 30 años. Al Dr. Sarriá y a la Dra. Prior, porque gracias a su curiosidad me decidí por este tema.

A Carmen, porque siempre has estado ahí, por las risas, por los ánimos, por compartirlo todo...eres una amiga de verdad.

A mi madre y a mi hermano, por su apoyo incondicional.

A Miguel, que está a mi lado cada día y consigue sacar lo mejor de mí. Por haberme dado lo mejor que tengo en la vida.

Y finalmente a mis hijos, Manuel y Carmen, gracias por hacerme tan feliz. Ahora que mamá ha terminado su “libro”, mi tiempo es vuestro.

ABREVIATURAS

ACJ: artritis crónica juvenil

AI: autoinmune

APL: atrofia vellositaria parcial ligera

API: atrofia vellositaria parcial intensa

AST: atrofia vellositaria subtotal

APM: atrofia vellositaria parcial moderada

SPSS: *Statistical Package of Social Sciences*

Ac: anticuerpo

AGA: anticuerpos antigliadina

ATG2: anticuerpos antitransglutaminasa tipo 2

ATG3: anticuerpos antitransglutaminasa tipo 3

ATG6: anticuerpos antitransglutaminasa tipo 6

APDG: anticuerpos antipéptidos deamidados de gliadina

CPA: célula presentadora de antígeno

CD: célula dendrítica

DM1: diabetes mellitus tipo 1

DH: dermatitis herpetiforme

DSG: dieta sin gluten

E: especificidad

Enf: enfermedad

EA: enfermedades asociadas

EAI: enfermedades autoinmunes

EC: enfermedad celíaca

ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

EMA: *antiendomysial antibodies* (anticuerpos antiendomisio)

EW: enfermedad de Wilson

ESPGHAN: Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica

FQ: fibrosis quística

HAI: hepatitis autoinmune

HLA: *Human Leukocyte Antigen* (antígeno leucocitario humano)

IFI: inmunofluorescencia indirecta

INF- γ : interferón γ

Ig: inmunoglobulina

IL: interleucina

LM: lactancia materna

LIEs: linfocitos intraepiteliales

LT: linfocitos T

NK: *natural killer* (citotóxica natural)

ppm: partículas por millón

PDG: péptidos deamidados de gliadina

TLR: *T cell receptor* (receptor de célula T)

TLR: *Toll-like receptor* (receptor tipo Toll)

S: sensibilidad

Sd: síndrome

SD: síndrome de Down

SGNC: sensibilidad al gluten no celíaca

TA: tiroiditis autoinmune

TDAH: trastorno por déficit de atención e hiperactividad

TG2: transglutaminasa tipo 2

TG3: transglutaminasa tipo 3

TNF: factor de necrosis tumoral

VPN: valor predictivo negativo

VPP: valor predictivo positivo

RESUMEN

“CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y GRADACIÓN DEL RIESGO EN NIÑOS ESPAÑOLES”

La enfermedad celíaca (EC) es una enfermedad de carácter inmunológico y afectación multisistémica en la que existe un factor desencadenante externo, el gluten, pero que solo tiene lugar en individuos con predisposición genética. Sin la presencia de los heterodímeros HLA-DQ2 y/o DQ8, el gluten no desencadena la respuesta inmunológica necesaria para el desarrollo de la enfermedad. Nuestro objetivo consistió en analizar y estratificar el riesgo en niños españoles en función de la genética HLA e investigar su relación con las variables demográficas, clínicas, serológicas e histológicas de la enfermedad. Hemos realizado dos estudios complementarios. En primer lugar un estudio observacional retrospectivo caso-control en una muestra de 475 pacientes celíacos y 628 controles para calcular el riesgo a padecer EC en función de los diferentes genotipos HLA-DQ en la Comunidad Autónoma de Madrid, y realizar una gradación del mismo. Posteriormente analizamos las variables demográficas, clínicas, serológicas e histológicas de los pacientes celíacos, intentando investigar la influencia del HLA en todas ellas mediante tablas de contingencia y pruebas de significación estadística y mediante regresión logística.

Tras analizar los resultados concluimos que la mayor predisposición genética para desarrollar EC en población pediátrica española viene determinada por los alelos que codifican el heterodímero HLA-DQ2.5, seguida de la conferida por los haplotipos HLA-DQ8 y HLA-DQ2.2, los cuales implican un riesgo similar y menor. Es destacable que la presencia del haplotipo HLA-DQ7.5 en ausencia de otros haplotipos HLA de riesgo, si bien hace muy improbable el desarrollo de EC, no puede emplearse para descartar su diagnóstico cuando existen otros indicios de la enfermedad. Observamos que los niños con la genética HLA de máximo riesgo, determinada por la doble dosis del alelo *HLA-DQB1*02* en portadores del haplotipo HLA-DQ2.5, presentan mayor riesgo de desarrollar anticuerpos dirigidos frente al enzima transglutaminasa tipo 2 (antitransglutaminasa tipo 2 o antiendomiso), con un efecto que depende de la edad, y además observamos como la presencia de la genética HLA de máximo riesgo aumenta la también tienen mayor probabilidad de presentar las lesiones histológicas más graves (Marsh 3b y Marsh 3c), con un efecto que se ve afectado por el sexo. Además, la homocigosis de los haplotipos HLA-DQ2.5 y DQ8 parece que aumenta el riesgo de desarrollar EC en niños con antecedentes de familiaridad en primer grado. Estas conclusiones son

relevantes para la práctica clínica, sobre todo en niños con antecedentes familiares, donde serían de utilidad para poder sugerir la periodicidad de las determinaciones serológicas

ABSTRACT

“GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATION OF CELIAC DISEASE AND RISK GRADING IN SPANISH CHILDREN”

Celiac disease (CD) is an immune-mediated disease with multisystemic involvement. It is triggered by an external factor, gluten, but only in individuals with genetic susceptibility. The presence of the HLA-DQ2 and/or DQ8 heterodimers are needed to develop the immunological response which leads to the disease. Our objective was to analyze and stratify the risk to develop CD in Spanish children according to the HLA predisposing genetics and to investigate their association with demographic, clinical, serological and histological variables of the disease. We carried out two complementary studies. First, a retrospective observational case-control study was performed in a sample of 475 celiac patients and 628 controls from Madrid (Spain) aimed to calculate the risk of developing CD according to the different HLA-DQ genotypes. Subsequently, the demographic, clinical, serological and histological variables of celiac patients were considered to investigate the influence of HLA in all of them by using contingency tables with statistical significance tests and also logistic regression. After analyzing the results, we conclude that genetic predisposition to develop CD in Spanish pediatric population is mainly influenced by the alleles encoding the HLA-DQ2.5 heterodimer, and also by HLA-DQ8 and HLA-DQ2.2 haplotypes, the latter two involving a similar lower risk. It is noteworthy that the presence of the HLA-DQ7.5 haplotype in absence of other HLA risk haplotypes, makes CD development unlikely, but it can not be used to rule out its diagnosis when a high suspicion of CD exists. We found that children with the highest genetic risk, as determined by double dose of the *HLA-DQB1*02* allele in carriers of the HLA-DQ2.5 haplotype, are at increased risk of developing antibodies directed against type 2 transglutaminase (anti type 2 transglutaminase and antiendomysium antibodies), with an effect that depends on the age, and they also have increased probability of developing the most severe histological lesions (Marsh 3b and Marsh 3c), being this effect affected by sex. Homozygosis for HLA-DQ2.5 and HLA-DQ8 haplotypes appears to increase the risk of developing CD in children with a family history of CD. These findings are relevant to clinical practice, especially in children of this risk group, and could be useful to suggest the periodicity of serological screening in asymptomatic relatives according to their HLA genotype.

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- DEFINICIÓN ACTUAL

La enfermedad celíaca (EC) es un proceso autoinmune y multisistémico que ocurre en individuos genéticamente predispuestos, y consiste en una intolerancia permanente a ciertas proteínas presentes en algunos cereales y que se engloban bajo el término gluten.^{1,2,3}

A partir de la publicación de las “ESPGHAN guidelines for the diagnosis for Coeliac Disease in children and adolescents. An evidence-based approach”, documento publicado en el *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* en enero de 2012⁴, se establece una nueva definición de la EC en los términos siguientes:

La EC es una alteración sistémica de carácter autoinmune desencadenada por el consumo de gluten y prolaminas relacionadas en individuos con predisposición genética (principalmente HLA), caracterizada por una combinación variable de: manifestaciones clínicas gluten-dependientes, anticuerpos específicos de EC, haplotipo HLA-DQ2 y/o DQ8 y enteropatía. Es decir, que por primera vez se considera la enteropatía como un elemento más del diagnóstico pero no un criterio indispensable, como en la definición clásica, y por primera vez se destaca la importancia del HLA.

Esta intolerancia ocasiona una respuesta inflamatoria aberrante y crónica de células T que dispara la producción de autoanticuerpos específicos a nivel sistémico, que se cree que pueden estar implicados en las complicaciones extraintestinales. En la mayoría de los pacientes la alteración de la respuesta inmunológica conduce a una atrofia de las vellosidades intestinales y a una hiperplasia de las criptas a nivel de yeyuno, aunque otros tramos (duodeno, íleon) también pueden estar afectados⁵, con la consiguiente malabsorción de nutrientes^{2,6}.

Las manifestaciones clínicas, así como las alteraciones serológicas e histológicas, desaparecen al retirar el gluten de la dieta y reaparecen al introducirlo de nuevo en la alimentación. Por tanto, el único tratamiento eficaz de la EC es una dieta estricta sin gluten durante toda la vida^{7,8}. Actualmente no existe unanimidad en

considerar a la avena como una proteína segura para el celíaco, ya que, al ser su contenido en prolaminas muy inferior al resto de cereales tóxicos, sus efectos podrían manifestarse a más largo plazo o solo en individuos con mayor riesgo de sensibilización^{9,10}. Con una dieta rigurosa exenta de gluten se consigue la mejoría de los síntomas a partir de las dos semanas, aproximadamente, la normalización serológica entre los 6 y los 12 meses y la recuperación de las vellosidades intestinales en torno a los dos años de iniciado el tratamiento. En los últimos años se están investigando otras posibles estrategias de utilidad terapéutica, distintas a la dieta sin gluten¹¹. Sin embargo, antes de su aplicación clínica deberán demostrar su eficacia y seguridad respecto a la dieta sin gluten.

1.2.- EPIDEMIOLOGÍA

La EC puede llegar a afectar hasta al 1% de la población, tanto en niños como en adultos, y la prevalencia está aumentando en los últimos años.^{12,13}. Están descritas importantes variaciones entre países¹⁴, que oscilan, en Europa, desde el 2% en Finlandia al 0,3% en Alemania¹⁵. Antiguamente se pensaba que la EC aparecía de forma exclusiva/predominante en los europeos caucásicos, pero los estudios epidemiológicos posteriores revelan que se desarrolla también en zonas pobladas por personas de ascendencia no europea, como en Oriente Medio y Norte de África, así como en Asia y Sudamérica^{16,17}. Recientemente se han publicado datos de regiones donde la prevalencia hasta ahora era desconocida, como India¹⁸⁻²⁰ (donde parece similar al resto de poblaciones), o China, donde la prevalencia de autoinmunidad positiva llega hasta el 2%²¹, y existen regiones donde la prevalencia conocida es muy baja, como el sureste asiático (Indonesia, Filipinas, Corea del Sur), probablemente debido a la influencia de dietas basadas en el arroz²². Excepto en la región saharauí del Norte de África, donde la prevalencia puede llegar hasta en el 5%²³, y en la región central de África, donde no se describe la misma distribución de haplotipos de riesgo, se asume que prácticamente ninguna región del mundo se aleja de la media del 1%²² (Figura 1). Esta prevalencia puede ser mucho mayor, debido a que un porcentaje importante de casos permanece sin detectar²⁴.



Figura 1. Prevalencia de enfermedad celiaca. Figura extraída de Lionetti et al. ⁽³³⁾

En España existen escasos estudios de prevalencia real de EC, estando muchos de ellos centrados por regiones²⁵⁻²⁷ y con diferencias metodológicas en cuanto a la selección de pacientes, algunos de ellos detectados por cribado entre donantes de sangre²⁸. En la Comunidad de Madrid, en el año 2008, fueron reclutados 2919 niños en edades comprendidas entre 6 y 18 años, pertenecientes a 60 colegios, objetivándose una prevalencia de 1 de cada 79 sujetos estudiados²⁹ (Figura 2).

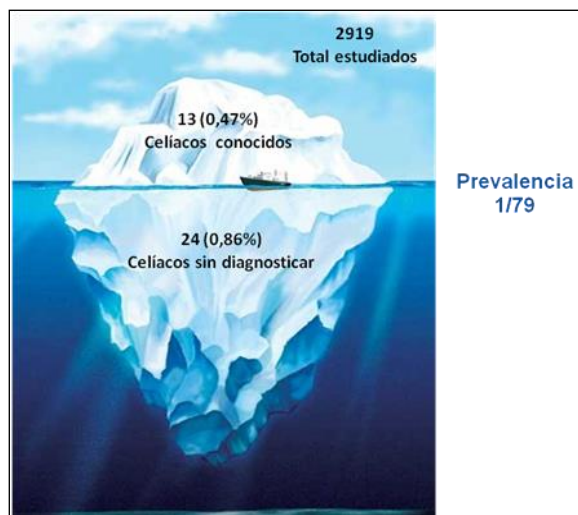


Figura 2. Prevalencia de enfermedad celíaca en la Comunidad de Madrid (año 2008). Figura adaptada de Polanco I et al. ⁽²⁹⁾

Entre los más recientes destacan el estudio en la cuenca mediterránea de Navalón et al³⁰ que comunica una prevalencia global de EC de 0,26%, que asciende

entre la edad pediátrica hasta el 0,62%, y el de Cilleruelo et al³¹, con una prevalencia del 4% en niños de riesgo con HLA-DQ2 positivo.

La gran difusión mundial de la EC podría explicarse por el elevado consumo de trigo y cebada, que ha seguido a los flujos migratorios, y por la diferente frecuencia de portadores de haplotipos de riesgo DR3-DQ2 y DQ8. El genotipo DQ2 se presenta en el 30-40% en la población general, es más frecuente (20-30%) en Europa, Oriente Medio y Norte de África, y es prácticamente inexistente en las regiones centrales de África y en Japón³². En cambio, el haplotipo DQ8 se presenta en más del 20% de la población de Centroamérica y Sudamérica, y en torno al 10% en el resto de las regiones³³.

La EC es todavía más prevalente (5-10%) entre los pacientes diagnosticados de determinadas enfermedades autoinmunes³⁴, como la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) o la tiroiditis autoinmune (TA), o con síndromes específicos, como el síndrome de Down³⁵ y el síndrome de Turner³⁶. Sin embargo, el factor de riesgo más importante es la existencia de antecedentes familiares³⁷. En familiares de primero y segundo grado aparece entre el 5 y el 15%³⁸ y algunos autores señalan que es más prevalente cuando el familiar afecto es un hermano³⁹.

También se observa con mayor frecuencia en el sexo femenino, con *ratios* de 2:1 y hasta 3:1, lo que no significa que sea realmente más prevalente en mujeres, sino que se diagnostica con mayor frecuencia en el sexo femenino. Esta diferencia en cuanto al diagnóstico entre géneros podría deberse a la mayor incidencia de enfermedades autoinmunes en el sexo femenino en general⁴⁰. En la edad pediátrica la prevalencia es similar entre niños y niñas.

1.3.- ETIOLOGÍA

La EC es peculiar entre las enfermedades crónicas inflamatorias intestinales, porque se ha podido identificar un factor externo, el gluten, y un factor genético, el HLA-DQ2/8, fundamentales para el desarrollo de la enfermedad.

1.3.1.- Gluten

El gluten es la fracción proteica soluble en alcohol de cereales como el trigo, cebada y centeno, compuesto por una mezcla heterogénea de gliadinas y gluteninas. Se digiere difícilmente en el tubo digestivo debido a su elevado contenido en prolina y residuos de glutamina⁶, siendo la gliadina la responsable de la acción tóxica del gluten.

1.3.2.- Factores genéticos.

La EC presenta un fuerte componente genético, observado inicialmente por la importante agregación familiar y concordancia entre gemelos monozigóticos. Así, estudios de gemelos monozigóticos indicaban una concordancia de alrededor del 80% frente al 20% entre gemelos dizigóticos.^{41,42} El riesgo relativo entre hermanos (riesgo que tiene el hermano de un paciente de padecer EC comparado con el riesgo que tiene de padecer esa misma enfermedad un individuo de la población general) también es elevado en EC, con valores descritos entre 20 y 60⁴³⁻⁴⁵.

1.3.2.1.- Genética HLA.

Los principales factores genéticos de riesgo se localizan en el MHC (Complejo Principal de Histocompatibilidad), que en humanos recibe el nombre de HLA (*Human Leukocyte Antigen*). Su asociación con la susceptibilidad a EC se conoce desde los años 70, aunque hubo que esperar^{46,47} una década para conocer los genes concretos responsables de tal asociación.

El MHC está codificado por un conjunto de genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6, en la región 6p21. Esta región se extiende a lo largo de aproximadamente 4000 kb y engloba más de 200 genes. Además de la elevada densidad génica, una de las mayores del genoma, el MHC se caracteriza por su baja tasa de recombinación y consecuente elevado desequilibrio de ligamiento, aumentado por la fuerte presión selectiva sobre esta región. Esto implica que alelos de distintos genes forman con frecuencia haplotipos, es decir, combinaciones de alelos que se transmiten juntos en el mismo cromosoma (configuración *cis*) con mayor frecuencia de

la que se esperaría por azar. También llamativa es la elevada variabilidad genética, es decir, el elevado número de alelos presentes en algunos genes HLA.

Las moléculas HLA presentan un patrón de herencia codominante, es decir, que cada individuo va a expresar los alelos heredados de cada progenitor. Por tanto, en individuos heterocigotos, aparecerán las moléculas codificadas por cada uno de los alelos presentes.

En la Figura 3 se representa un esquema de la región HLA, incluyendo los principales genes, que se agrupan en tres clases: clase I, clase II y clase III. Los genes *HLA-DQA1* y *HLA-DQB1*, presentes en HLA de clase II, son los responsables del riesgo a presentar EC. Estos genes codifican la cadena α y la cadena β , respectivamente, de las moléculas HLA-DQ.

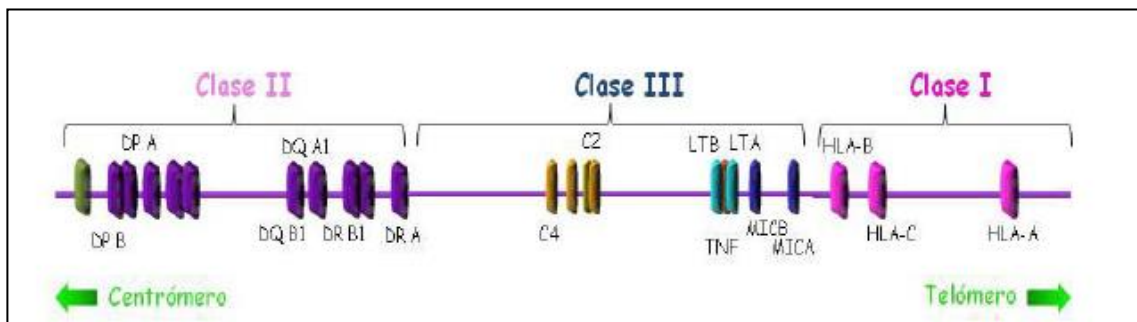


Figura 3. Representación simplificada de los genes en el complejo HLA.
Figura extraída de la tesis doctoral de B Dema.⁴⁸

Más del 90% de los pacientes con EC son portadores de una variante del heterodímero HLA-DQ2 codificada por los alelos *HLA-DQA1*05* y *HLA-DQB1*02*, ya sea en configuración *cis* (ambos alelos en el mismo cromosoma) apareciendo en el mismo haplotipo que *HLA-DRB1*03* (haplotipo HLA-DQ2.5), o en configuración *trans* (cada alelo en un cromosoma homólogo diferente), y que aparecen principalmente en individuos heterocigotos que portan los haplotipos *HLA-DRB1*11/12-HLA-DQA1*05-HLA-DQB1*03* (haplotipo HLA-DQ7.5) y *HLA-DRB1*07-HLA-DQA1*02-HLA-DQB1*02* (haplotipo HLA-DQ2.2) (Figura 4). El resto de los pacientes que no presentan HLA-DQ2 (considerando solo HLA-DQ2.5), son portadores en su mayoría del heterodímero denominado HLA-DQ8, codificado por los alelos *HLA-DQA1*03* y *HLA-DQB1*03:02* en

configuración *cis*, que aparecen en el mismo haplotipo que *HLA-DRB1*04* (Figura 4). Por último, una minoría de pacientes presenta solo uno de los dos alelos que codifican HLA-DQ2, ya sea el alelo *HLA-DQB1*02* (haplotipo HLA-DQ2.2) o el alelo *HLA-DQA1*05* (haplotipo HLA-DQ7.5). A partir de aquí designaremos los distintos haplotipos como DQ2.5, DQ8, DQ2.2 y DQ7.5.

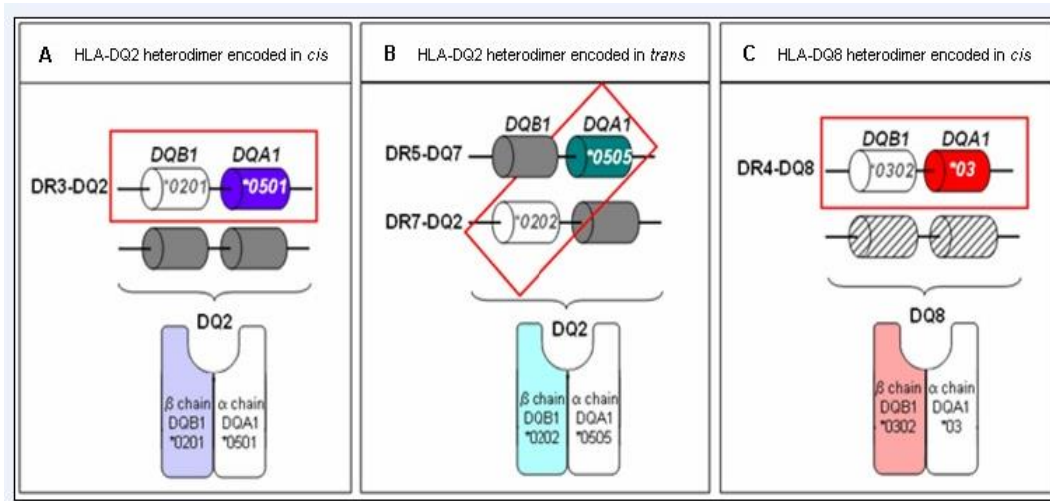


Figura 4. Representación de los heterodímeros más frecuentes en enfermedad celiaca. A: heterodímero HLA-DQ2 codificado en configuración *cis*; B: heterodímero HLA-DQ2 codificado en configuración *trans*; C: heterodímero HLA-DQ8 codificado en configuración *cis*. Figura tomada de Taylor A et al. (Gene Reviews ®)⁴⁹

Sin embargo, la presencia de HLA-DQ2 o DQ8 no predice el desarrollo de la enfermedad, puesto que también un 30-40% de la población general sana es portadora. Pero sí es importante el elevado valor predictivo negativo (VPN) (próximo al 100%) conferido por la ausencia de HLA-DQ2/DQ8.

También se ha observado que la presencia de los distintos alelos descritos modifica el riesgo a padecer EC, y además con un efecto de dosis génica. De este modo, en individuos homocigotos DQ2.5 se observa el mayor riesgo a presentar EC, el cual es similar al que aparece en heterocigotos DQ2.5/DQ2.2. Por ello se sabe que el riesgo elevado se debe principalmente a las dos copias del alelo *HLA-DQB1*02*, más que al alelo *HLA-DQA1*05*. El haplotipo DQ2.2 es controvertido en lo referente a su papel de predisposición a la celiaquía. La mayor parte de los autores sostiene que, de forma aislada, no confiere susceptibilidad, disponiendo únicamente si se presenta

con el alelo *HLA-DQA1*05* (o haplotipo DQ7.5) y por tanto codificando el heterodímero DQ2.5 (para lo que hay consenso). También hay autores que postulan que en ausencia del haplotipo DQ7.5, el DQ2.2 confiere riesgo solo si aparece en homocigosis⁵⁰. La doble dosis de DQ8 también se ha propuesto como responsable de mayor riesgo⁵¹. La mayor controversia existe en referencia al haplotipo DQ7.5, actualmente excluido en las guías diagnósticas como factor de riesgo^{4,52}.

La homocigosis del alelo *HLA-DQB1*02* se ha relacionado con niveles de autoanticuerpos significativamente más altos, lo que a su vez se asocia a grados superiores de lesión histológica⁵³.

1.3.2.2.- Otros factores genéticos

La asociación con el HLA continúa siendo la más importante. Sin embargo, la EC es una enfermedad poligénica, con variantes genéticas en distintos cromosomas contribuyendo a la susceptibilidad a la misma. Con el desarrollo de los estudios de asociación por barrido genómico (GWAS) y otros estudios a gran escala, se han identificado más de 40 regiones cromosómicas asociadas a la EC, principalmente fuera de la región HLA. No obstante, todas ellas contribuyen en pequeña medida a la heredabilidad de la EC y en su mayoría se desconoce su papel exacto en la enfermedad⁵⁴.

1.3.3.- Otros factores ambientales

El gluten es un factor ambiental necesario para el desarrollo de la EC, pero existen otros que pueden influir en su desarrollo. Entre ellos, los más investigados han sido el tipo de parto, la ingesta de antibióticos, el tipo de lactancia y la duración de la lactancia materna. Estos factores perinatales y postnatales que influyen en el proceso de colonización intestinal, también se han asociado en algunos estudios epidemiológicos con el riesgo de sufrir la EC. Hasta hace cinco años el papel de la lactancia materna durante el periodo de introducción del gluten fue un tema controvertido, con estudios a favor de que reduce el riesgo de desarrollar la enfermedad en un 50%, y estudios en contra de que exista asociación^{55,56}. En ese

sentido se han desarrollado dos estudios europeos prospectivos a nivel multicéntrico^{57,58}, que demuestran que ninguno de estos factores (edad de introducción del gluten, lactancia materna) juega un papel relevante en el desarrollo de la enfermedad en población de riesgo de EC. El dato que sí que parece confirmarse es que la predisposición genética es el mayor factor de riesgo para desarrollar EC, pero como actualmente no se realiza estudio genético a los lactantes antes de la introducción complementaria, las conclusiones derivadas de estos estudios en población de riesgo se han generalizado para todos los lactantes. Las recomendaciones ESPGHAN actuales⁵⁹ sostienen que: no existe relación entre EC y lactancia materna, siendo beneficiosa *per se* para el lactante, pero no para prevenir el desarrollo de la enfermedad; que el gluten se puede introducir en cualquier momento entre los 4 y 12 meses de edad. En lactantes de riesgo (familiares con estudio HLA positivo) cuanto más precozmente se introduzca mayor riesgo de que aparezca la enfermedad en edades tempranas, aunque el riesgo acumulado en edades posteriores es similar al de los que lo introdujeron más tarde. No obstante, respecto a la cantidad de gluten consumida y su repercusión en el desarrollo de EC, hay escasas publicaciones que aborden la cuestión de manera prospectiva, pero sí que recomiendan evitar la ingesta de cantidades elevadas durante las primeras semanas tras la introducción^{60,61}.

La asociación entre el desarrollo de EC y la estación del año en la que nace el niño también se ha investigado, con muy leve incremento del riesgo en aquellos nacidos en verano, explicado en parte porque estos niños introducirían el gluten en la dieta durante el invierno, cuando las infecciones virales gastrointestinales son más frecuentes⁶². También se cree que pueda desempeñar un papel la radiación ultravioleta y la vitamina D⁶³.

Otros posibles factores de riesgo que se han propuesto son las infecciones adquiridas en la infancia, fundamentalmente por rotavirus^{64,65} y muy recientemente por reovirus⁶⁶. Este trabajo, dirigido por Bana Jabri, del Centro de Enfermedad Celíaca de la Universidad de Chicago sugiere que, en individuos genéticamente predispuestos, la combinación de la infección por un reovirus intestinal con una primera exposición al gluten podría romper la tolerancia a un antígeno de la dieta generalmente inocuo, el

gluten. La importancia de este estudio radica en que por primera vez se establece una relación entre una infección muy poco virulenta y un efecto inmunopatológico a nivel de la mucosa intestinal, y podría explicar el desarrollo de la patología en algunos celíacos⁶⁷.

Un campo de investigación que actualmente despierta gran interés, es la influencia de la microbiota intestinal y su relación con la EC^{68,69}. Se ha observado, mediante estudios in vitro y animales por el momento, que en la EC activa hay un predominio de cepas “potencialmente patógenas” (*Bacteroides* y *E. coli*), y recientemente se ha comunicado que los lactantes con riesgo para EC ligado al HLA-DQ2 tienen mayor proporción de Firmicutes (*Clostridium*) y Proteobacterias (Enterobacteriaceae), y menores proporciones de Actinobacteria (*Bifidobacterium*, con perfil protector) que aquellos que no son portadores del HLA-DQ2/DQ8⁷⁰.

Los factores perinatales, en concreto la vía de parto, se han estudiado en conjunto con el desarrollo de los estudios de la microbiota intestinal. Los estudios apuntan a que la EC es algo más frecuente en los que nacen mediante cesárea electiva, puesto que su microbiota intestinal es diferente a los que atraviesan el canal del parto⁷¹.

1.4.- PATOGÉNESIS

La respuesta inmunológica contra el gluten en los pacientes celíacos es consecuencia de la afectación tanto de la respuesta inmunológica innata (mediada por los linfocitos intraepiteliales (LIEs) de la mucosa), como adaptativa (mediada por los linfocitos de la *lámina propia*)⁷², promoviendo un ambiente proinflamatorio, con infiltración linfocitaria que en la mayoría de los pacientes conduce a la característica atrofia vellositaria con hiperplasia de las criptas⁷³.

Disfunción de la barrera epitelial

En la EC existe un aumento de la permeabilidad intestinal a la gliadina del gluten, además de una pérdida de tolerancia. Para que los péptidos no digeridos de gliadina, ricos en prolina y glutamina, inicien la cascada patogénica, deben penetrar en el compartimento subepitelial, lo cual hacen por vía transcelular, paracelular o por retrotransporte⁷⁴.

La *vía paracelular por difusión pasiva* se ha relacionado con el péptido zonulina, que produce el desensamblaje de las *tight junctions* (uniones intercelulares estrechas) y, que en los pacientes celíacos está implicada en la entrada anormal de péptidos de gluten. La gliadina se une al receptor CXCR3 para citocinas y esta unión estimula la liberación de zonulina⁷⁵, ya de por sí a elevadas concentraciones en la mucosa intestinal de pacientes celíacos. Sin embargo, este efecto de la gliadina sobre la liberación de zonulina y, por tanto, sobre la permeabilidad intestinal, también se observa en individuos sanos, aunque en menor grado.

Respuesta innata

Parece que el gluten puede causar un efecto tóxico directamente sobre el epitelio intestinal, desencadenando los mecanismos que conducen a la activación de los LIEs, responsables de la destrucción de los enterocitos. El gluten favorece la proliferación y activación de linfocitos en el epitelio intestinal, estos LIEs son principalmente de tipo CD8+ con TCR $\alpha\beta$ y expresan en su superficie receptores de tipo NKG2D y NKG2C/CD94, a través de los cuales pueden reconocer las moléculas de estrés MICA y HLA-E, respectivamente, expresadas por los enterocitos, lo que conduce a su actividad citotóxica hacia ellos. El aumento de producción de IL-15 parece ser clave en estos procesos⁷⁸. También se produce un aumento característico de linfocitos con TCR $\gamma\delta$, estos expresan receptores NKG2A y parecen tener una función reguladora.

Respuesta adaptativa

La unión del HLA a los péptidos específicos de gluten es esencial para realizar la presentación antigénica, y explica la restricción al HLA-DQ2 y DQ8.

El HLA engloba principalmente un conjunto de proteínas de membrana cuya función biológica es la presentación de antígenos peptídicos a los linfocitos T. Este hecho hace que sea muy importante en las respuestas inmunológicas y que se haya encontrado asociado a numerosas enfermedades, con gran relevancia en enfermedades autoinmunes.

Las moléculas HLA se agrupan principalmente en tres categorías: HLA de clase I, clase II y clase III. Las moléculas HLA de clase II son las implicadas en EC. A diferencia de las moléculas HLA de clase I, presentes en prácticamente todos los tipos celulares nucleados, las moléculas de clase II aparecen solo en ciertos tipos celulares, principalmente en las denominadas células presentadoras de antígeno (CPA) (células dendríticas, macrófagos y linfocitos B). Estas moléculas son heterodímeros, constituidas por dos cadenas, la cadena α y la cadena β , ambas presentando un dominio externo, un segmento transmembrana y un segmento de anclaje citoplasmático. Sus dominios extracelulares presentan gran variabilidad, puesto que conforman el sitio de unión a los péptidos que presentarán a los linfocitos T CD4.

Los heterodímeros HLA-DQ2 y DQ8 presentan gran afinidad por péptidos derivados del gluten. Para que la unión sea óptima, es crucial la presencia de residuos cargados negativamente, preferentemente en posiciones concretas. La transglutaminasa tipo 2 (TG2) deamida los péptidos de gliadina transformando los residuos de glutamina en ácido glutámico (cargados negativamente), de tal forma que facilita su unión a los heterodímeros HLA-DQ2 y DQ8 presentes en la superficie de CPA, principalmente en células dendríticas (CD), para ser presentados a los linfocitos T CD4. Estos linfocitos gluten-reactivos comienzan a producir citocinas de tipo Th1 (IFN- γ , TNF- α , IL-18, IL-21)^{76,77}, que retroalimentan el proceso de daño tisular y, además,

parece que interaccionan con los linfocitos B favoreciendo que se diferencien en células plasmáticas y secreten anticuerpos específicos contra TG2, gliadina o péptidos deamidados de gliadina⁷⁸. Además, activan a los linfocitos T CD8, responsables del daño tisular (Figura 5). En los últimos años se están publicando artículos acerca del papel que juega la IL-21 en la EC. Por un lado contribuye al daño tisular participando en el aumento de producción de IFN- γ , pero también se produce por células T reguladoras.

En resumen, la respuesta inmunológica responsable de la enteropatía celíaca incluye una respuesta innata mediada por los LIEs de la mucosa, y una respuesta adaptativa mediada por los linfocitos de la lámina propia, que es de tipo humoral y celular, y se desencadena por un elemento externo, el gluten, tras ser deamidado por la TG2, que constituye el principal autoantígeno en la EC (Figura 5).

Las prolaminas son las principales responsables de la acción tóxica del gluten, tanto por su interacción una vez deamidadas con los linfocitos T CD4 gluten específicos, como por la acción directa de ciertos fragmentos de gliadina sobre el epitelio, independientemente de los linfocitos⁷⁹.

Se desconoce si la respuesta innata en el epitelio intestinal precede, es consecuencia, o sucede al mismo tiempo que la respuesta adaptativa en la *lámina propia*⁸⁰.

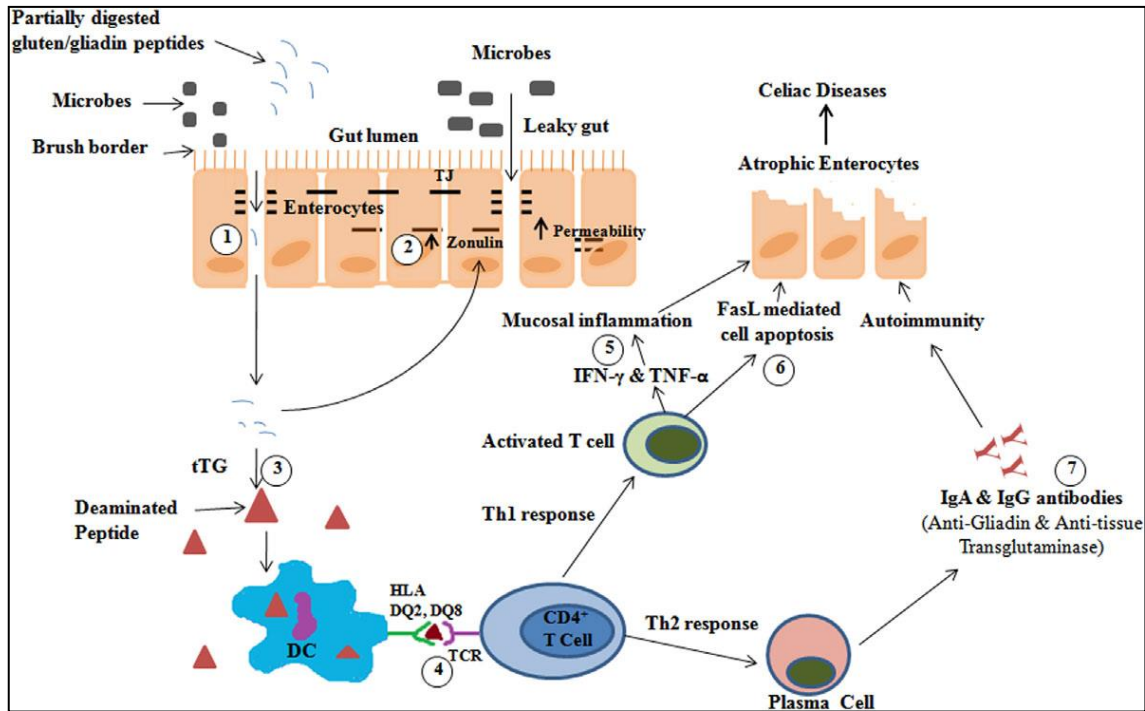


Figura 5.-Figura explicativa de la patogénesis de la EC. Extraída de: Kumar et al⁷⁴.

1.5.- PRESENTACIÓN CLÍNICA

1.5.1.- Nuevos conceptos: el consenso de Oslo

La EC puede afectar a individuos de cualquier edad y etnia, y a cualquier órgano. La presentación clínica de la EC es heterogénea, desde síntomas claramente indicativos de un síndrome malabsortivo (EC *clásica*) a síntomas gastrointestinales menos específicos, o incluso manifestaciones extraintestinales, la denominada presentación clínica *no clásica*.

Con el fin de unificar la terminología y eliminar algunos conceptos que pueden llevar a confusión, en el año 2011 tuvo lugar el consenso de Oslo⁸¹, según el cual la EC se debe denominar en cuanto a la presentación clínica como clásica y no clásica, eliminando los conceptos de típica y atípica, debido a que el cuadro florido de diarrea, distensión abdominal y síndrome malabsortivo denominado “EC típica” tendía a confundirse con lo más frecuente, que actualmente es menos frecuente en adultos, gracias en parte al diagnóstico precoz.

La EC clásica se caracteriza por manifestarse con síntomas y signos de malabsorción (diarrea y malnutrición), o por un síndrome malabsortivo (pérdida de peso, esteatorrea y edemas por hipoalbuminemia). La EC no clásica incluye la enteropatía, que se puede manifestar con todo tipo de síntomas tanto intestinales como extradigestivos, incluyendo la anemia ferropénica.

Tabla 1.- Presentación clínica (Criterios de Oslo)	
Clásica (antes <i>típica</i>)	Diarrea Malnutrición Síndrome malabsortivo: pérdida de peso, esteatorrea, edemas
No clásica (antes <i>atípica</i>)	Sin síndrome malabsortivo Manifestaciones digestivas/ extraintestinales

La EC se subdivide a su vez en sintomática, asintomática o subclínica, y potencial. En el tipo subclínico o asintomático, antes denominado silente, no hay manifestaciones clínicas evidentes (aunque de forma retrospectiva al instaurar una DSG muchos refieren mejoría), pero sí evidencia biológica de alteración inducida por el gluten (serología positiva, biopsia alterada). Generalmente en estos pacientes el diagnóstico de sospecha se establece en base a estudios de *screening* realizados en grupos de riesgo. La EC potencial se refiere a la presencia en pacientes con haplotipo de riesgo, con o sin síntomas, de una biopsia normal o con linfocitosis intraepitelial y marcadores serológicos positivos. Puesto que estos pacientes pueden desarrollar la enfermedad evolutivamente, antiguamente se conocía como EC latente. La ESPGHAN⁴ sin embargo mantiene el término “latente”, para definir a aquellos pacientes con serología positiva que tienen una mucosa normal y no presentan síntomas o son inadvertidos mientras consumen gluten, pero que desarrollarán enteropatía en algún momento evolutivo.

También introducen un nuevo concepto para definir a aquellos pacientes en los que por algún motivo se ha solicitado serología para EC y es positiva en dos determinaciones, pero que no tienen afectación clínica evidente y no se plantean más pruebas diagnósticas inmediatas, sino que permiten esperar a ver evolución, normalizándose las pruebas serológicas en algunos casos. A estos pacientes el consenso de Oslo los denomina “autoinmunidad celíaca positiva”.

Tabla 2.- Clasificación EC			
	CLÍNICA	SEROLOGÍA	ALTERACIONES HISTOLÓGICAS
Sintomática	Sí	+	+
Asintomática/ Subclínica (antes silente)	No	+	+
Potencial (antes también latente)	Sí/No	+	-
Latente (ESPGHAN 2012)	Sí/ No	+/-	-
Autoinmunidad celíaca	No	+	No realizada

Respecto a las patologías relacionadas con el gluten, recomiendan eliminar los términos “intolerancia al gluten” y “sensibilidad al gluten”, y denominar “trastornos asociados a la ingesta de gluten”, en los que el intestino puede estar afecto o no, como son la dermatitis herpetiforme (DH), la ataxia inducida por gluten, y la sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC).

Tabla 3.- Nomenclatura respecto al gluten	
Trastornos relacionados con el gluten (antes <i>intolerancia/ sensibilidad al gluten</i>)	Dermatitis herpetiforme
	Ataxia gluten- dependiente
	Sensibilidad al gluten no celíaca

1.5.2.- Sintomatología

Han existido muchos cambios en la historia de la EC, una enfermedad eminentemente pediátrica hasta los años 60⁸². Con el tiempo se ha comprobado que si bien la incidencia es mayor en niños, es un trastorno inmunológico que se puede desarrollar a cualquier edad. No existen todavía marcadores que nos permitan saber el momento en el que un individuo desarrollará la enfermedad, ni existen marcadores para predecir la gravedad de la sintomatología. Gracias al interés general y la constante investigación en los últimos años, con herramientas diagnósticas cada vez más efectivas y eficientes, es muy probable que se haya registrado un aumento en la incidencia, pero a la vez ha disminuido el tiempo medio de diagnóstico desde que se inician los síntomas. Esto es más evidente en la edad pediátrica, donde el tiempo medio es de 6 meses, pero en adultos puede llegar hasta 10 años, y aún más en ancianos. A pesar de ello, se estima que todavía están sin diagnosticar de 1 de cada 3 pacientes en el mundo¹⁴.

Multitud de publicaciones ponen de manifiesto que los síntomas de la EC también son diferentes según la edad a la que se desarrolle la enfermedad^{83,84}. En niños pequeños predominan los síntomas gastrointestinales, y, según avanza la edad, puede aparecer cualquier síntoma que afecte a cualquier órgano.

La presentación clínica clásica es más frecuente en niños de 6 a 24 meses, e incluye diarrea crónica, anorexia, carácter apático, distensión abdominal y fallo de medro o pérdida de peso; en algunos, además, vómitos. Si se retrasa el diagnóstico, puede llegar a un cuadro de malnutrición grave y, en algunos casos, a desarrollar una crisis celíaca con hemorragias cutáneas o digestivas, por defecto en la síntesis de vitamina K, deshidratación y alteraciones hidroelectrolíticas (hipocalcemia, hipocaliemia) con edemas por hipoalbuminemia. Afortunadamente gracias al reconocimiento y sospecha clínica precoz no suelen llegar a un cuadro de gravedad. Las formas sintomáticas en España, según datos del registro REPAC⁸⁵ y REPAC 2, se

diagnostican con mayor frecuencia, habiendo aumentado la mediana de la edad de diagnóstico de los 2 a los 4-5 años (datos aún no publicados).

En niños mayores, adolescentes y adultos predominan las formas no clásicas. Las consecuencias de la malabsorción inadvertida son diversas, como retraso en la talla, pérdida de peso, anemia, trastornos neurológicos por déficit de vitamina B y osteopenia por déficit de vitamina D y calcio. Son frecuentes síntomas como irritabilidad, estreñimiento, dolor abdominal, retraso puberal y retraso de talla. En mujeres se describen problemas menstruales como amenorrea y menarquia retrasada, así como problemas perinatales (prematuridad, bajo peso al nacimiento, abortos, infertilidad)⁸⁶⁻⁸⁸. Sin embargo, no parece que la mayor incidencia de abortos pueda atribuirse automáticamente a la EC^{89,90}.

Entre las manifestaciones neurológicas, se describen con mayor frecuencia en adultos ataxia, neuropatía periférica y epilepsia, así como trastornos psiquiátricos⁹¹ (depresión, ansiedad, esquizofrenia); y en niños, hipotonía, retraso en el desarrollo, trastornos del aprendizaje, trastorno de déficit de atención e hiperactividad (TDAH), cefalea y ataxia cerebelosa, aunque las manifestaciones neurológicas se describen en ambos grupos de edad. Incluso hay quienes conjeturan la relación entre las diferentes manifestaciones neurológicas en niños con el grado de lesión vellositaria⁹², o que la epilepsia de Julio César estaba en relación con EC⁹³. También se ha descrito la tríada epilepsia, calcificaciones intracraneales occipitales bilaterales y EC, denominada enfermedad de Gobbi⁹⁴, y defectos del esmalte dental relacionados con la dentición decidua y secundaria^{95,96} que son más frecuentes entre los pacientes celíacos, adultos y niños, y no tienen por qué relacionarse con síntomas digestivos. Su prevalencia en niños varía desde 38 a 96%. Aunque no son específicos de la EC, se considera típico de EC si la distribución es simétrica en los 4 cuadrantes de la dentición⁹⁷. Existe evidencia de que estos efectos podrían estar mediados por mecanismos inmunológicos asociados con el alelo de riesgo *HLA-DRB1*03*, y no con la malabsorción de calcio⁹⁸.

La dermatitis herpetiforme (DH) es una de las manifestaciones atípicas más habituales. La DH es la manifestación cutánea de la EC en forma de una erupción

papulovesicular pruriginosa de predominio en superficies de extensión y nalgas. El estudio inmunológico demuestra la presencia de anticuerpos específicos EMA, ATG2 y contra la transglutaminasa 3 (TG3), con el hallazgo de depósitos granulares de IgA en la unión dermoepidérmica como dato patognomónico⁹⁹. Es excepcional en niños menores de 3 años y, a diferencia de la EC, es algo más frecuente en hombres. Se cree que alrededor de un 5% de pacientes celíacos desarrollarán una DH a lo largo de su vida. Todos los pacientes con DH presentan sensibilidad al gluten, sin embargo, solo entre un 60 y un 75% de pacientes con DH presentan alteraciones histopatológicas en la biopsia intestinal y la inmensa mayoría de ellos se encuentran asintomáticos desde el punto de vista digestivo. Existe una reacción cruzada entre los anticuerpos IgA debido a la similitud en la estructura entre la TG3 y la TG2. La teoría aceptada más reciente consiste en que con la exposición continua al gluten, se generarían anticuerpos con alta afinidad por la TG3 y baja afinidad por la TG2, que acabarían desembocando en el desarrollo de la DH¹⁰⁰. Los ATG3 también se han detectado a edades más precoces en el suero de los niños con EC sin DH, sin relación con el título de ATG2, EMA o APDG ni con el grado de lesión vellositaria¹⁰¹, como tampoco existe relación con los niveles de ATG6 y la afectación neurológica¹⁰². Esto podría conjeturar que los ATG3 encontrados en la EC no son los mismos que en la DH, con menor afinidad de la TG3 en el primer caso (EC).

También son frecuentes la artritis, sobre todo en adultos¹⁰³, como manifestación de enfermedades reumatológicas autoinmunes (artritis reumatoide), y la afectación hepática. En niños también se han descritos casos de EC asociada a artritis crónica juvenil (ACJ)¹⁰⁴, más frecuente en el tipo psoriasis, aunque también en la entesitis y la forma oligoarticular. Tanto es así que recientemente se está discutiendo la conveniencia de incorporar la artritis reumatoide juvenil como grupo de riesgo asociado a EC¹⁰⁵.

En el caso de la afectación hepática, los pacientes pueden presentar desde una hipertransaminasemia asintomática, más frecuente al diagnóstico^{106,107}, a casos de hepatitis, cirrosis biliar primaria y hepatitis crónica, incluyendo una hepatitis autoinmune (HAI)¹⁰⁸.

Las diferentes manifestaciones clínicas según la edad de comienzo de la enfermedad se resumen en la tabla 4.

Tabla 4.- Edad y síntomas		
Niño pequeño	Niño mayor y adolescente	Adultos
Diarrea crónica Falta de apetito Vómitos Dolor abdominal recurrente Laxitud Irritabilidad Apatía Introversión Tristeza	Frecuentemente asintomáticos Estreñimiento Dolor abdominal Menarquia retrasada Irregularidades menstruales Cefalea Artralgias Hábito intestinal irregular	Diarrea crónica Dispepsia Dolor abdominal recidivante Pérdida de peso Síntomas que simulan síndrome de intestino irritable Vómitos recidivantes sin causa aparente Estreñimiento Dolores óseos y articulares o historia de fracturas (ante traumatismos banales) Parestesias, tetania Infertilidad, abortos recurrentes Irritabilidad Astenia Ansiedad, depresión, epilepsia, ataxia
Signos y alteraciones analíticas		
Malnutrición Distensión abdominal Hipotrofia muscular Retraso ponderoestatural Anemia ferropénica Hipoproteinemia	Anemia ferropénica Talla baja Aftas orales Hipoplasia del esmalte Distensión abdominal Debilidad muscular Artritis, osteopenia Queratosis folicular	Malnutrición con o sin pérdida de peso Edemas periféricos Talla baja Neuropatía periférica Miopatía proximal Anemia ferropénica sin explicación Hipoesplenismo Osteopenia u osteoporosis (especialmente adulto joven) Aftas bucales recidivantes Descenso de albúmina sérica Disminución del tiempo de protrombina Deficiencia de ácido fólico o vitamina B ₁₂ (no explicada) Hipertransaminasemia inexplicada

Pacientes asintomáticos

Parece evidente que para una enfermedad tan común como la EC, con un tratamiento fácil y efectivo como es la DSG, se debería realizar pruebas a cualquier paciente con síntomas atribuibles a EC. Sin embargo, para los celíacos asintomáticos, no se puede señalar un beneficio definitivo de la detección de EC (ni en la reducción de

los síntomas, ya que no tienen por definición ninguno, ni un aumento en la calidad o la esperanza de vida). Existen pocos datos disponibles basados en estudios prospectivos acerca de EC subclínica y potencial, y su evolución posterior. La mayoría de los estudios con seguimiento a largo plazo se centran en la morbilidad y mortalidad en la edad adulta, pero en edad pediátrica son menos^{109,110}. El estudio de Auricchio et al¹¹¹, en niños, tras 9 años de seguimiento clínico, serológico e histológico, es un ejemplo de que los pacientes con EC potencial pueden mantener una dieta normal sin desarrollar evolutivamente lesión vellositaria, y que incluso en algunos pacientes la elevación de anticuerpos es transitoria. El estudio más reciente en adultos tampoco recomienda iniciar una DSG en pacientes con EC potencial¹¹².

Además, a diferencia de las enfermedades congénitas como el hipotiroidismo congénito, en las que una primera prueba es suficiente para descartar la enfermedad, la EC puede comenzar a cualquier edad, por lo que tener una prueba serológica negativa no descarta su desarrollo en el futuro. De decidirse a hacer pruebas en estos individuos, existe un método de cribado de EC con un VPN excepcionalmente alto: el cribado HLA. Los pacientes con un HLA negativo no desarrollarán EC, por lo que una posible estrategia para evitar la repetición de pruebas es realizar primero una prueba de HLA¹¹³.

En las últimas recomendaciones de organismos importantes como la *US Task Force*¹¹⁴, no hay evidencia de que el cribado a pacientes asintomáticos sea beneficioso, y recomienda individualizar cada caso.

1.5.3-. Grupos de riesgo

1.5.3.1.- Familiares

Desde que se conoce la estrecha asociación etiopatogénica entre EC y la predisposición genética se ha generalizado la búsqueda de casos de EC entre los familiares en aras de conseguir un diagnóstico precoz y evitar complicaciones futuras. Las personas con mayor riesgo de EC incluyen aquellas que tienen antecedentes familiares positivos (en primer o segundo grado), con una prevalencia estimada de 5%

a 20%, y personas con otras enfermedades autoinmunes (EAI). El valor predictivo positivo (VPP) de las pruebas serológicas para la EC es del 12% al 40%, suponiendo una prevalencia de EC en población general de aproximadamente el 1%. En una población de mayor riesgo, el VPP es del 40% al 80%, dependiendo de la prueba serológica utilizada y si la prevalencia asumida es de 5% o 10%¹¹⁴.

Entre los familiares, existe mayor riesgo entre los familiares de primer y segundo grado, especialmente en los primeros. En la misma familia la prevalencia es mayor entre hermanos (9%), y con mayor riesgo si un hermano o hijo del caso índice es del sexo femenino¹¹⁵. La prevalencia también es mayor en gemelos monozigotos, familias con varios casos de EC o hermanos que comparten los alelos de susceptibilidad HLA^{41,113}.

1.5.3.2.- Enfermedades asociadas (EA)

Entre un 15-30% de los pacientes con EC presentan una EA, mientras que en la población general esta cifra es del 3 al 9%¹¹⁶. Las EA más frecuentes y bien definidas son la DM1, la enfermedad tiroidea AI y la hepatitis AI. También se han descrito su asociación con enfermedades reumatológicas AI tales como artritis idiopática juvenil (AIJ), artritis reumatoide (AR) y síndrome de Sjögren primario, así como con cirrosis biliar primaria, anemia hemolítica AI, púrpura trombopénica idiopática, enfermedad de Addison. Las EA más frecuentes se muestran en la tabla 5.

La coincidencia de EC con algunas EAI sugiere un mecanismo patogénico autoinmune común, o la implicación de los mismos genes en la susceptibilidad a estas enfermedades¹¹⁷⁻¹¹⁹. Los haplotipos HLA-DR3-DQ2 y HLA-DR4-DQ8 son los que asocian mayor riesgo de desarrollar DM1 y tiroiditis AI. Además, con el desarrollo de los estudios genéticos a gran escala se vio que comparten diversas variantes genéticas de riesgo localizadas fuera del HLA¹²⁰.

Es también frecuente la presencia de autoanticuerpos circulantes en los pacientes celíacos y sus familiares¹²¹, con significado clínico desconocido, y en muchos casos su presencia no parece depender de la exposición al gluten de la dieta.

El papel de la DSG como factor protector frente a la autoinmunidad es controvertido, antiguamente se le atribuía un papel protector contra la autoinmunidad en general¹²²⁻¹²⁴. Esta hipótesis no se confirmó en estudios más recientes¹²⁵⁻¹²⁷. Sin embargo, el último estudio publicado al respecto, prospectivo¹²⁸, revela una mayor incidencia de EA en pacientes con EC diagnosticados en la edad adulta, apoyando un posible efecto dañino de la exposición temporal al gluten. Con respecto a la positividad de autoanticuerpos, se ha descrito, por ejemplo, que la DSG disminuye la prevalencia de anticuerpos antitiroideos, aunque se desconoce si previene contra el desarrollo de hipo o hipertiroidismo posteriormente^{129,130}.

La asociación entre DM1 y EC se conoce desde hace tiempo¹³¹ y ha sido ampliamente estudiada. Se estima una prevalencia del 1% en la población general, que asciende hasta el 10% en celíacos¹³² con un riesgo relativo de DM1 en pacientes con EC de 2,4¹³³. La EC en la DM1 se asocia a un exceso de morbilidad (peor control glucémico con alteración en el perfil lipídico, nefropatía y retinopatía), aunque parece que estas complicaciones son más frecuentes en los pacientes con enteropatía, y por tanto, no tan frecuentes en niños con EC potencial¹³⁴. No parece que la DSG mejore los niveles de HbA1C en los niños diabéticos¹³⁵.

La EC aparece en hasta el 25% de los pacientes con tiroiditis AI^{136,137}. Como ocurre con la DM1, la DSG no previene en desarrollo de TAI ni disminuye la necesidad de tratamiento sustitutivo con levotiroxina en pacientes con hipotiroidismo AI^{127,138,139}.

La EC es también más prevalente (5-10%) en síndromes específicos como el síndrome de Down (SD) y el síndrome de Turner.

El vínculo entre SD y EC no se conoce exactamente, aunque se sugiere una posible asociación con el INF- α , que interviene en la patogenia de la EC, y cuyo receptor se localiza en el cromosoma 21. En España la EC en el SD tiene una prevalencia del 6,3 %¹⁴⁰, y a nivel internacional se describe que el riesgo es hasta 6 veces mayor que en la población general (OR de 6,15 (IC 95% = 5,09-7,43))¹⁴¹. Aunque la asociación de EC y SD está descrita desde hace tiempo¹⁴², no existe consenso universal en cuanto a si se debe realizar cribado de EC en niños asintomáticos¹⁴³, en Europa y España se recomienda realizarlo de forma protocolizada^{4,8}.

En el síndrome de Turner la prevalencia de EA también está aumentada¹⁴⁴, siendo el riesgo para EC hasta 14 veces mayor¹⁴⁵. Además, el riesgo se incrementa con la edad¹⁴⁶. Respecto al Síndrome de Williams, se describen incidencias de hasta el 4%¹⁴⁷, aunque otros estudios describen una incidencia similar a la población general¹⁴⁸. En los escasos casos que hay descritos la forma de presentación más frecuente es la forma clásica, aunque se desconoce si los problemas gastrointestinales y de alimentación de estos niños forman parte del síndrome o es porque existía una EC subyacente¹⁴⁹.

La fibrosis quística (FQ) y la EC fueron reconocidas durante muchos años como una entidad clínica única¹⁵⁰. La incidencia de EC en población general y en FQ es similar, y no se ha encontrado por el momento factores genéticos ni patogénicos que expliquen esta asociación¹⁵¹.

Tabla 5.- Enfermedades asociadas		
EA y otras inmunopatías	Trastornos neurológicos y psiquiátricos	Otras asociaciones
<ol style="list-style-type: none"> DM 1 (5-6%) Tiroiditis autoinmune (5%) Déficit selectivo de IgA (4%) Enf inflamatoria intestinal Sd Sjögren Lupus eritematoso sistémico Enfermedad de Addison Nefropatía por IgA Hepatitis crónica autoinmune Cirrosis biliar primaria Artritis reumatoide Psoriasis, vitíligo y alopecia areata 	<ol style="list-style-type: none"> Encefalopatía progresiva Síndromes cerebelosos Demencia con atrofia cerebral Leucoencefalopatía Epilepsia y calcificaciones Esquizofrenia 	<ol style="list-style-type: none"> Sd Down (12%) Sd Turner Sd Willians Fibrosis quística Enf Hartnup Cistinuria Colitis microscópica Cardiomiopatía Fibromialgia Sd fatiga crónica

Sd: síndrome; Enf: enfermedad; DM1:diabetes mellitus tipo 1

1.5.4.- Complicaciones

1.5.4.1.- Morbilidad

La EC se asocia a una elevada morbilidad en la edad adulta, siendo las complicaciones más frecuentes la osteopenia/osteoporosis, artritis, infertilidad, abortos de repetición y las alteraciones neuropsiquiátricas.

En la evolución de la EC se describen trastornos de la mineralización ósea, osteoporosis y osteomalacia. La EC se asocia con un mayor riesgo de fracturas, con riesgos relativos en torno a 2 para las fracturas que suceden antes o después del diagnóstico de EC¹⁵². En España hasta un 75% de los pacientes celíacos presentan alteraciones en la mineralización ósea en la edad adulta y el 40% desarrollan osteopenia y osteoporosis¹⁵³. La osteomalacia afortunadamente es rara en la edad pediátrica en el momento actual. El tratamiento incluye la DSG, además de la suplementación con calcio y vitamina D. Sin embargo, en algunos pacientes la densitometría puede permanecer alterada a pesar de un tratamiento correcto, probablemente porque los productos naturalmente libres de gluten son a menudo bajos en vitaminas B y D, calcio, hierro, zinc, magnesio y fibra, y el enriquecimiento de productos sin gluten con estos micronutrientes no es tan común¹⁵⁴.

1.5.4.2.- Mortalidad y malignidad

La evidencia también sugiere que la EC se asocia con exceso de mortalidad (adenocarcinoma intestinal y linfoma), sin embargo la evidencia es insuficiente en cuanto a si la enfermedad subclínica o asintomática tiene el mismo riesgo que la enfermedad sintomática.

Existen varios estudios que analizan la mortalidad en pacientes celíacos no diagnosticados. El que tuvo un seguimiento más extenso es el estudio de Rubio Tapia¹⁵⁵ que encuentra un riesgo casi 4 veces mayor de muerte en hombres jóvenes (militares), sin embargo el resultado se debe interpretar con cautela por el escaso número de participantes y la dificultad de extrapolar los resultados a la población general. Otros estudios en cambio no encuentran ninguna relación entre EC y aumento de mortalidad^{156,157}.

En un metaanálisis reciente¹⁵⁸ la morbimortalidad en los adultos celíacos en DSG respecto a la población general secundaria a malignización no es mayor, aunque analizando enfermedades individuales como el linfoma no Hodgkin y el linfoma intestinal¹⁵⁹, sí parece que pueda existir cierta asociación: existen dos entidades, la *EC refractaria* y la *yeyunitis ulcerativa*, estrechamente relacionadas con el tiempo de

exposición al gluten que evolutivamente pueden derivar en un linfoma intestinal de células T. También se ha estudiado si la curación mucosa comprobada mediante biopsia, que implica un tratamiento correcto, disminuye el riesgo de trastornos linfoproliferativos, con datos que indican que sin haber alcanzado la curación histológica el riesgo de malignización es mayor^{160,161}.

El riesgo de otro tipo de neoplasias del tracto digestivo (cavidad oral, esófago, estómago, colon) es similar a la población general¹⁶².

1.6.- DIAGNÓSTICO

1.6.1.- Criterios diagnósticos

Los criterios diagnósticos de EC han ido cambiando con el tiempo. La ESPGHAN en 1969 estableció la necesidad de realizar al menos 3 biopsias intestinales, con el hallazgo de atrofia vellositaria grave en una 1ª biopsia obligatoria consumiendo gluten, una 2ª biopsia de comprobación de normalidad histológica tras dos años en DSG, y reaparición de lesión vellositaria comprobada en una 3ª biopsia tras la reintroducción del gluten en la dieta (provocación con gluten). En 1989 se revisaron estas normas¹⁶³, puntualizando que la segunda y tercera biopsias solo serían necesarias en niños menores de 2 años, casos de biopsia no realizada o con alteraciones inespecíficas al diagnóstico, y respuesta clínica a la exclusión de gluten no concluyente. Además, se introduce la importancia de la serología en el diagnóstico de la enfermedad.

Desde el año 2012, es posible diagnosticar la EC con métodos no invasivos y obviando la biopsia intestinal. Para realizar el diagnóstico sin biopsia se requiere sintomatología evidente atribuible a EC activa, junto con marcadores ATG2 claramente positivos (> 10 veces el límite de normalidad) y EMA también positivo en una segunda determinación, y genotipo HLA de riesgo (DQ2 o DQ8)⁴. La ejecución de estos criterios ha hecho disminuir ostensiblemente el número de biopsias realizadas, dejando la indicación de biopsia para los casos asintomáticos, los casos con marcadores que no superan 10 veces el valor normal y los casos clínicamente dudosos. Estos criterios difieren de los aplicados actualmente en Estados Unidos^{52,164}, pero se están intentando

validar en otros países y en la edad adulta¹⁶⁵⁻¹⁶⁷, y actualmente están en proceso de evaluación de su efectividad por parte de la ESPGHAN, cuyos resultados se publicarán en el año 2019.

Solo se debe retirar el gluten cuando se ha completado el proceso diagnóstico con todas las pruebas, tanto con biopsia como sin ella. La única excepción serán los pacientes clínicamente inestables con sintomatología clásica, en los que esperar los resultados sería inapropiado.

La provocación tras estos nuevos criterios queda relegada a los casos en que el estudio genético es negativo, la serología al diagnóstico es negativa y en los casos de enteropatía de bajo grado con clínica inicial dudosa. Una prueba de provocación se considera positiva si ocurre una elevación de marcadores serológicos, con recaída clínica o histológica.

Durante los últimos años hemos asistido a una mejoría evidente en las herramientas diagnósticas más utilizadas en la práctica clínica. Así, para el diagnóstico de EC podemos detectar la presencia de anticuerpos contra la gliadina (AGA) (en desuso actualmente por su elevada inespecificidad), sus péptidos deamidados (ADGP) y la TG2 (ATG2 y EMA) en sangre. También se ha incorporado como estudio casi rutinario el análisis genético, y, cada vez con más frecuencia en España, la biopsia intestinal con el análisis del fenotipo de LIEs por medio de citometría de flujo.

1.6.2.- Determinación de marcadores serológicos

La serología se debe solicitar a todo paciente con sospecha clínica, pacientes asintomáticos o con sintomatología no clásica con EA, y a los familiares de primer grado. No está consensuado el cribado masivo a la población, aunque la EC cumple la mayoría de los criterios de la OMS¹⁶⁸ para el cribado poblacional de enfermedades no transmisibles.

Para la interpretación correcta de los resultados de la serología es importante tener en cuenta los niveles de IgA circulante, la edad del paciente, si está o no

consumiendo gluten, y si está tomando o no inmunosupresores. El tiempo mínimo consumiendo gluten recomendado para considerar fiable un posible resultado positivo es de un mes, ya que los anticuerpos tienen una vida media de 30 a 60 días¹⁶⁹. Igualmente no se realizará serología a un lactante que no esté tomando gluten como parte de su alimentación complementaria, puesto que el gluten pasa a través de la leche materna, pero al parecer no en cantidad suficiente como para desencadenar la enfermedad.

Los primeros anticuerpos que se describieron, en los años 70, fueron los AGA, cuyo nivel se correlaciona con la ingesta de gluten. Poseen una sensibilidad elevada pero también son detectados en individuos sanos y en individuos con otro tipo de enteropatía no celíaca. Se considera que su presencia forma parte de la respuesta inmunológica de la mucosa. Al aparecer los demás anticuerpos (EMA y ATG2) su uso quedó relegado a los niños menores de 2 años, en los que un 10% pueden no haber desarrollado ATG2 o EMA en el momento de la sospecha diagnóstica. Posteriormente, se observó la elevada afinidad de los linfocitos T restringidos por HLA-DQ2/DQ8 por los péptidos ya deamidados por la TG2, reacción que no ocurre en individuos sanos, y se implementó la técnica de análisis de péptidos deamidados de la gliadina, inicialmente detectados por ELISA, con una sensibilidad (S) entre 70-95% y especificidad (E) de 80-94% para los de tipo IgG. Son útiles en los casos en los que el rendimiento de los ATG2 puede ser menor, como menores de 2 años y déficit IgA, pero el VPP de la prueba de forma aislada es bajo (30%, por lo que no se recomienda si no se determinan en combinación con ATG2 o EMA¹⁷⁰. Así, pueden no tener el valor de diagnóstico requerido como una prueba de cribado adicional a los ATG2 para identificar a los pacientes de EC en centros médicos donde está disponible la detección de EMA¹⁷¹.

Los EMA se descubrieron al estudiar biopsias de pacientes con DH, se observó la presencia de anticuerpos IgA contra el endomisio de las fibras musculares. Posteriormente se descubrió que el antígeno que se captaba en el endomisio de mono era la TG2¹⁷². Para su detección se utiliza la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). La determinación de EMA es la prueba más específica (97-100%), con un VPP de 98-100% para el diagnóstico de EC. Sin embargo, tiene una serie de inconvenientes

técnicos que dificultan su realización en masa, como son el procesamiento manual, y que su interpretación es subjetiva y se debe realizar en manos expertas. Al conseguir la detección de TG2 por ELISA, mucho más sencillo y con casi igual especificidad, su utilidad fundamental consiste en suplir los posibles falsos negativos de los ATG2 y confirmar en segunda muestra la positividad de ATG2 para evitar la biopsia según los nuevos criterios¹⁷³.

Los ATG2 actualmente son el marcador de elección porque si bien son algo menos específicos (S 91-95% y E 95-97%) que los EMA, son fácilmente realizables de forma rápida. Hace más de 10 años que se asume que valores por encima de 10 veces el valor de referencia corresponden con un grado de atrofia moderado - severo, incluso que los títulos de anticuerpos son directamente proporcionales al tipo de lesión vellositaria^{174,175} y que si se elevan en un paciente celíaco que previamente negativizó es por transgresión, pero su negativización no implica necesariamente la recuperación total de las vellosidades. En caso de encontrarnos ante una deficiencia de IgA, se solicitarán ATG2 de tipo IgG, sabiendo que tienen una vida media mayor¹⁷⁶, por lo que pueden tardar más tiempo en negativizarse tras iniciar la DSG.

La sensibilidad (S) de los ATG2 disminuye en casos de DSG y alteraciones parcheadas de la mucosa intestinal, pueden dar falsos negativos en la enteropatía autoinmune, tratamiento con inmunosupresores y también en menores de dos años. Aunque en raras ocasiones, también existen falsos positivos como en casos de otras EA, enfermedades hepáticas, tumores, y daño tisular de cualquier tipo. En estos casos se suelen encontrar elevados a nivel medio y sin elevar los EMA.

Existen unos kits de test combinados rápidos en sangre capilar que son útiles como cribado inicial, que cuentan con elevada S y E, y con excelente VPN¹⁷⁶. Aun así no son equiparables a los ATG2 y EMA, por lo que en caso positivo (o negativo con sospecha clínica fuerte) debería confirmarse con serología convencional¹⁷⁷. En caso de que sea positivo o la sospecha clínica sea muy fuerte, se ampliará el estudio con EMA, estudio HLA y/o biopsia.

Actualmente se recomienda como primera medida de cribado realizar serología con ATG2 de tipo IgA y APDG de tipo IgG, que es la combinación que proporciona mejores resultados en cuanto a sensibilidad y especificidad en todos los grupos de pacientes, incluyendo niños pequeños y pacientes con déficit de IgA.

Por tanto, se puede afirmar que presencia de marcadores séricos (APDG, EMA y/o ATG2) elevados cuando el paciente está consumiendo gluten, y su desaparición tras suprimir el gluten de la dieta, es un dato biológico que apoya el diagnóstico, pero no un criterio suficiente *per se*¹⁷⁸. Esta afirmación se apoya en que se han descrito casos de EC seronegativa¹⁷⁹, muy poco prevalente en niños (2%) y en población adulta, con atrofia vellositaria y síntomas graves que mejoran tras DSG, una vez excluidas otras causas de lesión vellositaria.

1.6.3.- Biopsia duodenoyeyunal

Hasta el año 2012 la biopsia intestinal se consideró el *gold* estándar para el diagnóstico de EC. Actualmente esto solo se mantiene en adultos o fuera de Europa para niños y adultos¹⁸⁰. En la biopsia intestinal se debe valorar el grado de lesión vellositaria, número de LIEs con o sin daño en el enterocito, aumento de células inflamatorias en la lámina propia e hiperplasia de las criptas¹⁸¹. Es consistente con EC si tiene un grado de enteropatía avanzado, pero la lesión no es patognomónica y también ofrece ciertas limitaciones.

La mucosa intestinal contiene vellosidades para poder incrementar la superficie absorptiva, que en condiciones normales tienen un tamaño de 3 a 5 veces superior que las criptas, con un número de linfocitos de 5 a 10 por cada 100 células epiteliales en individuos sanos, localizados de forma preferente en la base de las vellosidades. El número de LIEs aparece aumentado en EC, actualmente el número de LIEs por cada 100 células epiteliales considerado patológico ha disminuido de los 40 inicialmente aceptados, a 20-25¹⁸⁰.

Para poder orientar el diagnóstico correctamente es importante obtener muestras de calidad apropiada y que sean valoradas por un patólogo experto en EC,

que informará acerca de la orientación, arquitectura de las vellosidades y número de LIEs¹⁸². Algunos autores consideran que si no hay 5 vellosidades consecutivas en la muestra obtenida por endoscopia, el diagnóstico no puede realizarse correctamente. La afectación intestinal en la EC es parcheada, por lo que, sobre todo en la edad pediátrica, se recomienda obtener al menos 4-5 biopsias, dos de la segunda porción duodenal y dos de la tercera porción, y conjuntamente al menos una de bulbo¹⁸⁰.

En la valoración histológica previa a la gradación de Marsh se describían diversos grados de atrofia vellositaria, desde la atrofia parcial leve hasta la atrofia subtotal, sin entrar a valorar la enteritis linfocítica. En 1990 Marsh¹⁸³ graduó las alteraciones histológicas observadas en la EC (tipo I/ infiltrativa; tipo II/ hiperplásica; tipo III/ destructiva) y posteriormente Oberhuber et al¹⁸⁴ modificaron la clasificación de Marsh dividiendo las lesiones tipo III en tres subtipos (A: atrofia parcial o leve; B: atrofia leve; C: atrofia completa). Debido a la variabilidad en la valoración histológica entre diferentes patólogos, Corazza y Villanaci^{185,186} proponen mantener el tipo I como lesión infiltrativa con no más de 25 LIEs por cada 100 enterocitos, y agrupa los tipos IIIa y IIIb en una única categoría denominada grado B1, con un *ratio* vellosidad/cripta < 3:1, manteniendo el tipo IIIc como grado B2. Esta última clasificación parece ser más sensible para lesiones de bajo grado, con mayor reproducibilidad interobservador, y, por tanto, mejor aceptada.

En los últimos años el diagnóstico se realiza en fases cada vez más precoces de la enfermedad, sin poder objetivar en muchos casos un grado de atrofia vellositaria grave. En ese sentido ha cobrado especial relevancia el análisis de LIEs desde un punto de vista descriptivo (número y distribución de los mismos en las vellosidades), y su análisis inmunológico por citometría de flujo. En la mucosa de pacientes celíacos se observa mayor proporción de LIEs localizados en la parte apical de las vellosidades, y afectación más precoz de bulbo que de los tramos distales.

Para aumentar la especificidad actualmente se puede determinar el linfograma epitelial mediante citometría de flujo, y los depósitos de ATG2 en la mucosa. Los depósitos subepiteliales de ATG2 son menos sensibles que la citometría de flujo en el

análisis de la enteropatía de bajo grado¹⁸⁷. El inmunofenotipo en individuos sanos está constituido en su mayoría por linfocitos CD3⁺CD8⁺, portadores del receptor de célula T (TCR) αβ (>90% del total de CD3⁺) y una minoría de linfocitos que expresan el TCR γδ (<10%), además de linfocitos CD3⁺CD103⁺ (valores normales en torno al 30% del total de LIEs). En la EC activa aumenta el número de LIEs totales y el número de LIEs con TCR γδ, y disminuye el número de linfocitos CD3⁺CD103⁺. Tras la DSG el número total de LIEs se normaliza, persistiendo elevación de linfocitos con TCR γδ y disminución de CD3⁺CD103⁺, pero en menor grado que en la EC activa¹⁸⁸. Así, el linfograma epitelial es especialmente útil en las formas atípicas de la enfermedad, y en las fases iniciales con títulos de anticuerpos bajos, donde un incremento de LIEs puede ser el único hallazgo. También es útil en las biopsias de control tras un periodo de dieta exenta, ya que el número de linfocitos con TCR γδ permanece alterado, por lo que se podría obviar la indicación de una provocación con gluten.

1.7.- TRATAMIENTO

El único tratamiento eficaz de la EC es una dieta rigurosamente exenta en gluten (DSG) para toda la vida. Los pacientes no deben tomar trigo, centeno, cebada, triticale, ni avena, salvo que ésta última se haya cultivado de forma separada y quede garantizado que no contiene trazas¹⁰. Según el Codex Alimentarius¹⁸⁹, la cantidad máxima de gluten permitida por ley son 20 ppm.

La DSG “natural” es una dieta sana y variada, pero los productos manufacturados no son nutricionalmente óptimos, contienen gran contenido en azúcares y escasa fibra y minerales, lo que podría predisponer a estreñimiento y obesidad¹⁹⁰. En este sentido, el apoyo de un dietista resulta imprescindible.

En los últimos años se están desarrollando nuevas alternativas terapéuticas a la DSG, que están actualmente en desarrollo. Estas incluyen suplementación con probióticos (*B. lactis*) basado en un efecto teórico protector contra el daño epitelial producido por la gliadina; inmunoterapia mediante inyección subcutánea para inducir tolerancia (*Nexvax 2*); inhibidores de la TG2 como la cistamina con *KCC009*, de

administración oral, y con poca toxicidad y vida media; inhibidores de las moléculas HLA-DQ2 y DQ8 como las azidoprolinas, con mayor afinidad por estas moléculas; el *gluten transgénico*, basándose en la observación de que las especies más antiguas de trigo contienen menos α -gliadina y por tanto menos capacidad de activar la respuesta celular; la suplementación con glutenasas (endopeptidasas capaces de degradar el gluten y las prolaminas) presentes en bacterias y hongos, como el *Aspergillus niger* y *Sphingomonas capsulate*. Las endopeptidasas actúan a nivel de la luz intestinal y no intervienen en la cascada inmunológica que ocurre en la *lámina propia*¹¹.

1.7.1.- Repercusión

El diagnóstico de EC afecta a dos niveles fundamentales. La repercusión en el sistema sanitario es importante, debido a las complicaciones explicadas con anterioridad, que podrían evitarse con el diagnóstico precoz. Aun así, el cribado masivo no es universalmente aceptado^{191,192} en parte por la repercusión que tiene para un individuo asintomático iniciar una DSG. A nivel individual, la DSG tiene un coste mayor que una dieta con gluten, y además los individuos afectados de esta enfermedad deben analizar cuidadosamente la composición de todos y cada uno de los alimentos que van a ingerir, hecho que supone un estrés psicológico notable, además de un gasto de tiempo y económico considerables¹⁹³. El impacto social es también importante, en cuanto muchas actividades sociales de la vida diaria en nuestro medio se llevan a cabo en el contexto de comidas. Por ello, estos aspectos deberían ser explicados al paciente antes de comenzar la dieta, y muy especialmente, a aquellos pacientes subclínicos o asintomáticos¹⁹⁴, en aras de conseguir una adherencia correcta al tratamiento.

Recientemente se ha publicado un estudio español¹⁹⁵ acerca de la calidad de vida en los celíacos españoles y sus familiares, que está en consonancia con lo descrito previamente en la literatura. Los niños que se diagnosticaron a edades más precoces, que llevan mayor tiempo de seguimiento en DSG, y que comenzaron con sintomatología clásica obtienen mejor puntuación en cuanto a calidad de vida que aquellos detectados por cribado (en los que no se objetiva una mejoría clínica tras DSG) y que los adolescentes y niños mayores, por las implicaciones sociales de la DSG.

Los padres, en cambio, muestran una actitud neutral en la calidad de vida tras el diagnóstico de EC en alguno de sus hijos.

1.7.2.- Seguimiento

El seguimiento en las unidades pediátricas se realizará de forma periódica para comprobar un desarrollo adecuado, la ausencia de síntomas y negativización de la serología. No se considera necesario actualmente realizar controles histológicos debido a la concordancia entre la negativización de anticuerpos y la curación de la mucosa intestinal¹⁹⁶. No obstante, en un pequeño grupo de pacientes, puede ocurrir que a pesar un título de anticuerpos por debajo del valor de corte, se estén produciendo transgresiones inadvertidas. Se han desarrollado nuevas técnicas para detectar los péptidos no digeridos de gluten en las heces¹⁹⁷ o en la orina¹⁹⁸, y así monitorizar la adherencia al tratamiento de forma no invasiva.

En la transición a las unidades de adultos, es esencial que el celíaco adolescente haya asumido la responsabilidad sobre la DSG, y que pueda preguntar acerca de la adherencia a la dieta y las consecuencias de no hacerlo¹⁹⁹.

1.8- SENSIBILIDAD AL GLUTEN NO CELÍACA Y TRASTORNOS RELACIONADOS

Recientemente se ha descrito el término de *sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC)*, para describir a aquellos pacientes que presentan síntomas digestivos desencadenados por la ingesta de gluten, sin marcadores serológicos positivos, lesión histológica, ni necesariamente susceptibilidad genética. Previamente hay que descartar los diagnósticos de alergia de tipo inmediato al trigo y al gluten (IgE específica al gluten y al trigo y test cutáneos negativos) y EC (serología negativa: EMA, ATG2 y ADPG). No hay evidencia suficiente sobre su incidencia. Se estima que es mayor que la de la EC, con una prevalencia aproximada del 6-10%. Es más frecuente en adultos que en niños y, al igual que los trastornos funcionales, se da con mayor frecuencia en mujeres²⁰⁰. No existe evidencia de que los síntomas también se puedan desencadenar por otras proteínas del trigo distintas al gluten, ni tampoco el papel que

juegan los carbohidratos de cadena corta (FODMAPS) o la inflamación inducida por ATI (inhibidores de amilasas y proteasas que contiene el trigo). De ahí que Guandalini y Polanco²⁰¹ hayan propuesto utilizar el término "síndrome de intolerancia al trigo" para denominar a esta entidad. El patrón oro para el diagnóstico de la SGNC sería la provocación en doble ciego controlada con placebo²⁰², ya que la retirada del gluten de la dieta podría producir un efecto placebo que explicase la mejoría o desaparición de los síntomas. La clínica es variada, confundiéndose muchas veces con un síndrome de intestino irritable y otros trastornos funcionales, pero que el paciente refiere que mejoran tras retirar el gluten de la dieta en cuestión de horas o pocos días, y recidiva con la exposición al gluten. Al contrario de lo que sucede en la EC, la SGNC no parece presentar una mayor asociación con EA.

Alergia al trigo

La alergia al trigo se encuentra entre las diez primeras reacciones a alimentos mediadas por IgE. Se estima que a nivel mundial, afecta a entre el 0,5% y el 9% de la población. Es una enfermedad que es más común en niños que en adultos, y la mayoría de los niños alérgicos de trigo también sufren dermatitis atópica y otras alergias alimentarias.

Las pruebas disponibles actuales incluyen la detección de IgE específica de trigo sérica (RAST), pruebas de punción cutánea (*skin prick test*), *Patch testing* y pruebas de exposición oral al alérgeno.

Ataxia dependiente de gluten

La ataxia dependiente de gluten es un trastorno del sistema nervioso central, que cursa con una atrofia específica cerebelosa que resulta en una falta de coordinación de movimientos complejos como caminar, hablar y deglutir²⁰³.

La prevalencia de trastornos neurológicos en la EC es variable (2-10%), y es más frecuente cuanto más tarde se realice el diagnóstico, y en aquellos pacientes que no cumplen la dieta.

2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

El riesgo de presentar las diferentes manifestaciones clínicas, analíticas y anatomopatológicas de comienzo de la enfermedad celíaca (EC) varían en función de la genética HLA de riesgo presente.

2.2 OBJETIVOS PRINCIPALES

El objetivo principal es evaluar la relación entre la genética HLA de riesgo y las posibles diferencias observadas en cuanto a:

- Manifestaciones clínicas al diagnóstico de la enfermedad: sintomatología clásica y sintomatología no clásica, incluyendo en esta última la presentación asintomática (estudio realizado en familiares en primer grado o en sujetos pertenecientes a grupos de riesgo de presentar EC).
- Edad de comienzo de la enfermedad, entendiendo por comienzo el momento en que el paciente consulta por los primeros síntomas.
- Serología al diagnóstico: positividad y título de anticuerpos ATG2 o EMA IgA (IgG si procede) y positividad AGA IgA e IgG en los pacientes menores de 3 años en los que no se objetiva elevación significativa de ATG2 ni EMA.
- Grado de lesión histológica.

2.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS

Validar la clasificación de riesgo a presentar EC, previamente descrita en la literatura, en función de los genotipos *HLA-DQA1* y *HLA-DQB1* presentes, en población española.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

El trabajo consta de dos estudios. En primer lugar se efectúa un estudio observacional retrospectivo de casos-controles comparando todos los pacientes con datos de genética HLA con los de 628 controles, para conocer el riesgo de presentar EC en función de la genética HLA de riesgo en nuestra muestra de población española.

En segundo lugar se ha realizado un estudio observacional descriptivo retrospectivo de los pacientes diagnosticados de EC, analizando sus características clínico biológicas y su relación con la diferente genética HLA de riesgo.

3.2 POBLACIÓN ESTUDIADA

Los casos fueron pacientes españoles diagnosticados de EC en Consultas Externas de Gastroenterología del Hospital Universitario Infantil La Paz de Madrid entre los años 1977 y 2011, y que, en su mayoría, han completado seguimiento hasta los 18 años de edad.

Como controles se empleó una muestra de individuos de nacionalidad y ascendencia española reclutados en el Hospital Clínico San Carlos de Madrid y, por tanto, de la misma área geográfica que la muestra de pacientes. Aproximadamente 200 muestras procedían de donantes anónimos, y las muestras restantes correspondían a personal del propio hospital y conocidos, seleccionados en base a no presentar EC ni ninguna otra enfermedad mediada por el sistema inmunológico, tanto ellos como sus familiares de primer grado (excepto en el caso de donantes anónimos).

3.2.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA

La muestra inicial constó de todos los pacientes con estudio genético HLA disponible (598 individuos), de los que se revisaron las historias clínicas para comprobar cuáles tenían un diagnóstico de EC comprobada, y extraer datos clínicos y demográficos. Además, para el estudio de casos y controles, se emplearon datos de 628 controles sin enfermedades mediadas por el sistema inmunológico.

3.2.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes en edad pediátrica 0-18 años.
- Pacientes de nacionalidad y ascendencia española.
- Pacientes diagnosticados de EC comprobada según los criterios ESPGHAN vigentes en los años 1977-2011. Estos criterios incluyen la realización de una o varias biopsias intestinales (3 biopsias hasta el año 1990, la del momento del diagnóstico, una de control de normalidad y otra tras la provocación con dieta conteniendo gluten; desde 1990 una biopsia al diagnóstico, dejando la de normalidad a criterio médico y siempre previa a provocación con gluten, y omitiendo la biopsia de normalidad y posterior provocación si se considera un diagnóstico claro tras mejoría clínica y negativización de la serología al retirar el gluten de la dieta), y la determinación de marcadores serológicos para EC (ATG2, EMA y AGA).

3.2.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes de los que no se disponía de datos suficientes para confirmar el diagnóstico o para abordar los estudios planteados.
- Pacientes diagnosticados de EC latente o potencial (serología y genética positiva, con biopsia sin alteraciones) en los que al revisar los datos no habían desarrollado la enfermedad.
- Pacientes que tras el seguimiento evolutivo no se confirmó el diagnóstico de EC.

3.3 PROTOCOLO DE ESTUDIO

De todos los pacientes incluidos en el estudio se recogieron los datos de genotipado de los loci *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1* y *HLA-DQB1*. En base a estos datos los pacientes se clasificaron en distintos grupos dependiendo de la presencia de uno o más haplotipos de riesgo HLA (DQ2.5, DQ8, DQ2.2 y DQ7.5) y de las diferentes combinaciones de los mismos.

El genotipado de los loci HLA de interés se llevó a cabo en el Servicio de Inmunología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Tras la extracción de DNA de sangre periférica mediante el procedimiento de *salting out*, el genotipado se llevó a cabo mediante PCR-SSOP (*Polymerase Chain Reaction- Sequence Specific Oligonucleotide Probe*). Esta técnica se basa en una amplificación de cada locus seguida de una hibridación con sondas específicas que permiten la determinación alélica.

Se llevó a cabo una revisión sistemática de las historias clínicas de todos los pacientes para extraer las siguientes variables:

- Manifestaciones clínicas al diagnóstico de la enfermedad:
 - Sintomatología clásica:
 - Retraso ponderal: peso en el momento del diagnóstico, con desviación respecto a su curva previa de desarrollo de 2 o más percentiles.
 - Retraso de crecimiento: talla al diagnóstico inferior a -2 desviaciones estándar o menor del percentil 3 para su edad y sexo.
 - Diarrea crónica: deposiciones líquidas que se prolongan más de 4 semanas de duración.
 - Vómitos.
 - Hiporexia.
 - Distensión abdominal.
 - Sintomatología no clásica / presentación asintomática:
 - Dermatitis herpetiforme.
 - Aftas orales recurrentes.
 - Anemia ferropénica sin hábito malabsortivo.
 - Familiaridad en primer grado de EC.
 - Enfermedades asociadas a EC.
 - Diabetes mellitus tipo 1.

- Hipotiroidismo.
 - Déficit de IgA.
 - Síndrome de Down.
 - Otras.
- Edad de comienzo de la enfermedad: la presentación clínica clásica es más frecuente en niños menores de 3 años⁸⁵, edad a la que ya han debutado la gran mayoría de niños con EC, atendiendo a esta afirmación los pacientes fueron clasificados en dos grupos:
- Menor de 3 años al diagnóstico.
 - Igual o mayor de 3 años al diagnóstico.
- Serología al diagnóstico:
- ATG2 IgA (e IgG, si procede):
 - Títulos elevados: mayor de 100 U/ml.
 - Títulos moderados: entre 31 y 100 U/ml.
 - Títulos bajos: entre 12 y 30 U/ml.
 - Títulos negativos: menor de 12 U/ml.
 - AGA IgA e IgG en menores de 3 años:
 - Positivo para el rango de normalidad del laboratorio tal como se refiere más adelante.
 - Negativo para el rango de normalidad del laboratorio tal como se refiere más adelante.
 - EMA IgA (e IgG, si procede):
 - Positivo.
 - Negativo.

Durante los primeros años del estudio se determinó a todos los pacientes la serología AGA IgA e IgG. Posteriormente se solicitaban anticuerpos AGA IgA solo a los pacientes menores de 3 años, e IgG en caso de que el paciente presentase déficit de IgA.

Los EMA dejaron de solicitarse de forma rutinaria al generalizarse la determinación de ATG2 en el año 2000 por relación coste-beneficio, y ser altamente específicos en la infancia y más sencillos de determinar. Se solicitaban de forma adicional en caso de ATG2 negativo y sospecha clínica fuerte.

La serología AGA y ATG2 fue determinada mediante ELISA empleando los kits comerciales de Phadia Celikey (Phadia AB, Uppsala, Suecia). Los puntos de corte fueron: 12 U/ml para ATG2, 3 mg/l para AGA IgA y para AGA IgG 30 mg/l para menores de 3 años, y 18 mg/l para mayores de 3 años.

- Grado de atrofia vellositaria: la muestra para análisis histológico se obtuvo mediante cápsula de Watson-Crosby entre los años 1977-1996 y, posteriormente, también mediante gastroscopia bajo sedación, hasta el año 2009 en que pasaron a obtenerse exclusivamente mediante endoscopia. El grado de daño histológico se clasificó en “sin lesiones”, atrofia parcial ligera, atrofia parcial moderada, atrofia parcial intensa y atrofia subtotal según los informes anatomopatológicos, y desde el año 1992 en base a los criterios de Marsh¹⁸³, con su posterior modificación por Oberhuber en 1996¹⁸⁴, siendo adaptadas las muestras anteriores a esta fecha a dicha clasificación:
 - Normal y enteritis linfocítica: equivalente a “sin lesiones” o Marsh 0.
 - Marsh 2: equivalente a atrofia vellositaria parcial ligera (APL).
 - Marsh 3a: equivalente a atrofia vellositaria parcial moderada (APM).
 - Marsh 3b: equivalente a atrofia vellositaria parcial intensa (API).
 - Marsh 3c: equivalente a atrofia vellositaria subtotal (AST).

Los datos de genotipado HLA, así como las variables clínico-biológicas disponibles recogidas a partir de la revisión de las historias clínicas, fueron recopilados en una base de datos de Microsoft Access, para su posterior análisis estadístico.

3.4 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

3.4.1 ANÁLISIS DE RIESGO HLA

Las frecuencias genotípicas entre casos y controles se compararon mediante el test de la chi cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según se consideró apropiado, aplicado a las correspondientes tablas de contingencia 2×2. La intensidad del efecto o riesgo de cada genotipo o categoría genética se calculó mediante la *odds ratio* (OR) con sus intervalos de confianza al 95%. Los intervalos de confianza se estimaron mediante el método de Woolf, salvo que el tamaño de muestra fuese pequeño, en cuyo caso esta estima no constituía una buena aproximación y se calcularon los límites exactos. Estos análisis se llevaron a cabo mediante el programa Statcalc (EpiInfo v6).

El riesgo (R) para presentar EC en función de la genética HLA se calculó mediante el Teorema de Bayes para la probabilidad condicionada, que, aplicado a nuestro problema, derivaría en la fórmula:

$$R = \frac{R_{\text{poblacional}} * R_{\text{muestral}}}{R_{\text{sesgo muestral}}}$$

- Donde R poblacional se consideró 1/100 (la prevalencia general de EC).
- R muestral se calculó como N de celíacos/ N de controles en nuestra muestra para cada genética particular.
- R sesgo muestral se calculó como N celíacos totales/ N controles totales (es decir, la proporción entre celíacos y controles en nuestro estudio).

Los riesgos se han expresado como 1: N, donde N es el inverso del riesgo, es decir, el número de individuos de la población general con una genética determinada que existirían por cada celíaco con esa misma genética.

3.4.2 COMPARACIONES GENÉTICO-CLÍNICAS

Se analizaron las características generales del total de la muestra de pacientes estudiada, así como diferenciando cada categoría en función de la genética HLA presente, dividiendo a los pacientes según las combinaciones de DQ2.5, DQ8, DQ2.2 y DQ7.5 que presentasen.

Se realizó primero un análisis bivalente contrastando cada uno de los parámetros a relacionar (sexo, edad al diagnóstico, presentación clínica, positividad y niveles de anticuerpos, grado de lesión vellositaria), entre ellos y posteriormente cada uno con la variable independiente "genética HLA". Se realizó el test de independencia chi cuadrado, salvo en los casos en que este test no fue apropiado y se empleó el test exacto de Fisher. La significación de la prueba se fijó en 0,05.

En caso necesario, el contraste de cada variable con "genética HLA" se llevó a cabo mediante un análisis estratificado, evaluando la significación en cada estrato mediante el test chi cuadrado o el test exacto de Fisher. La diferencia entre estratos se evaluó mediante la prueba de homogeneidad, considerando significativos los valores menores de 0,1.

Para analizar simultáneamente la contribución de las distintas variables sobre la genética HLA se llevó a cabo un análisis de regresión logística binaria multivariante, en el que se analizó cada una de las siguientes variables dependientes: presentación clínica (clásica/no clásica), nivel de anticuerpos AGA IgA (positivos/negativos,) nivel de anticuerpos AGA IgG (positivos/negativos), nivel de ATG2/EMA (positivos/negativos y positivos a título elevado/resto de positivos) y lesión histológica (Marsh 3c y Marsh 3b/resto de lesiones; y Marsh 3c /resto de lesiones). La genética HLA se introdujo en el modelo como covariable, junto con sexo y edad de comienzo de la enfermedad, así como con el resto de las variables citadas anteriormente salvo la que estaba siendo evaluada como dependiente.

Capítulo 3.- Material y métodos

El tratamiento y análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa de análisis estadístico SPSS (*Statistical Package of Social Sciences*) versión 20.0 para Windows.

4-RESULTADOS

4.1.- GRADACIÓN DEL RIESGO A EC BASADO EN EL ESTUDIO HLA

4.1.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS GENOTIPOS HLA EN CASOS Y CONTROLES

Hemos analizado la genética HLA de 475 pacientes celíacos y la hemos comparado con la presente en 628 controles, para conocer el riesgo de presentar EC en función de la genética HLA en nuestra muestra de población española. En la figura 6 se aprecia cómo los genotipos DQ2.5 y DQ8 son mucho más frecuentes que en la población control.

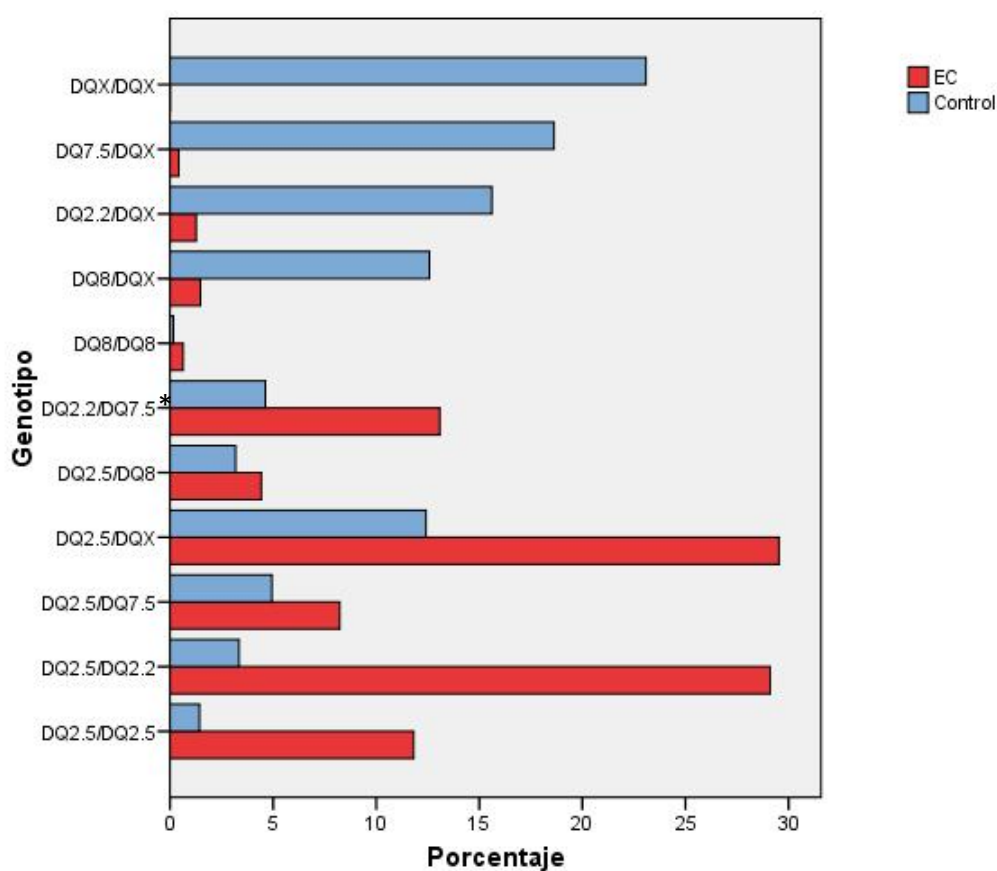


Figura 6.- Frecuencia (%) de los genotipos HLA-DQ en celíacos (EC) y controles. *DQ2.5 trans; "otro" indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; "DQX" indica sin riesgo.

4.1.2.- RIESGO DE EC ASOCIADO AL HLA-DQ

Al llevar a cabo la estratificación del riesgo genético asociado a EC en nuestra muestra en función de los diferentes genotipos HLA-DQ obtuvimos los siguientes resultados (Tabla 6).

Tabla 6.- Riesgo calculado en función del genotipo HLA							
GENOTIPOS HLA	EC (N=475)		Controles (N=628)		OR	IC 95%	p
	N	%	N	%			
DQ2.5	456	96,0	188	29,94	56,17	33,69-94,69	<10 ⁻⁷
DQ2.5 doble dosis	194	40,84	30	4,78	13,76	8,98-21,20	<10 ⁻⁷
DQ2.5/DQ2.5	56	11,79	9	1,43	9,19	4,34-20,14	<10 ⁻⁷
DQ2.5/DQ2.2	138	29,05	21	3,34	11,84	7,18-19,68	<10 ⁻⁷
DQ2.5 una dosis	262	55,16	158	25,16	3,66	2,81-4,76	<10 ⁻⁷
DQ2.2/DQ7.5*	62	13,05	29	4,62	3,10	1,92-5,03	<10 ⁻⁷
DQ2.5 <i>cis</i>	200	42,11	129	20,54	2,81	2,14-3,70	<10 ⁻⁷
DQ2.5/DQ8	21	4,42	20	3,18	1,41	0,72-2,74	0,28
DQ2.5/DQ7.5	39	8,21	31	4,94	1,72	1,03-2,88	0,027
DQ2.5/DQX	140	29,47	78	12,42	2,95	2,14-4,06	<10 ⁻⁷
DQ2.5 NEGATIVOS	EC (N=19)		Controles (N=440)		OR	IC 95%	p
	N	%	N	%			
DQ8	10	52,63	80	18,18	5,00	1,81-13,91	0,001
DQ8/DQ8	3	15,79	1	0,23	82,31	5,97-4328,53 [†]	<0,001
DQ8/DQ2.2	2	10,53	18	4,09	2,76	0,29-13,11 [†]	0,2
DQ8/DQ7	2	10,53	16	3,64	3,12	0,32-15,03	0,17
DQ8/DQX	3	15,79	45	10,23	1,65	0,30-6,07	0,44 [‡]
DQ2.2	7	36,84	98	22,27	2,04	0,70-5,75	0,16 [‡]
DQ2.2/DQ2.2	0	0	12	2,73	0,00	0-8,82 [†]	1 [‡]
DQ2.2/DQX	7	36,84	86	19,55	2,40	0,83-6,80	0,079 [‡]
DQ7.5	2	10,53	117	26,59	0,32	0,04-1,40 [†]	0,17 [‡]
DQ7.5/DQ7.5	0	0	15	3,41	0,00	0-6,81 [†]	1 [‡]
DQ7.5/DQX	2	10,53	102	23,18	0,39	0,04-1,69	0,27 [‡]
DQX/DQX	0	0	145	32,95	0,00	0-0,44 [†]	0,0025

*DQ2.5 *trans*; "DQX" indica sin riesgo; [‡] p calculada mediante el test exacto de Fisher a 2 colas.

[†]Límites exactos.

DQ2.5

El 96% de los pacientes presentan el heterodímero DQ2.5, ya sea en presencia del haplotipo DQ2.5 (configuración *cis*) como en presencia del genotipo constituido por los haplotipos DQ2.2/DQ7.5 (configuración *trans*), y tanto con una única dosis del

alelo *HLA-DQB1*02* como con dosis doble. Sin embargo, este heterodímero DQ2.5 se observa solo en el 30% de los controles. Por tanto, su presencia confiere un riesgo elevado para presentar EC (OR=56,17).

Dentro de los portadores de DQ2.5 se observa un riesgo diferente dependiendo del genotipo específico presente. El mayor riesgo (OR=13,76) lo confiere la presencia de doble dosis del alelo *HLA-DQB1*02*, lo cual se puede observar tanto en individuos homocigotos para el haplotipo DQ2.5, como en aquellos que presentan el genotipo DQ2.5/DQ2.2, grupos entre los que no existen diferencias (OR=0,95 IC 95%=0,38-2,39; $p=0,90$). El riesgo en estos individuos con doble dosis es 3,9 veces mayor (IC 95%=2,48-6,16) que en portadores de DQ2.5 con dosis única de *HLA-DQB1*02*, ya sea en configuración *cis* o *trans*, entre los que no se detectan diferencias significativas ($p=0,20$, OR=0,73 IC 95%=0,43-1,22).

Dentro de los individuos DQ2.5 en configuración *cis* con dosis única, es decir, aquellos individuos que presentan el haplotipo DQ2.5 en ausencia de un segundo alelo *HLA-DQB1*02*DQ2.2, evaluamos si había diferencia dependiendo del otro haplotipo presente. No observamos diferencias entre los portadores del haplotipo DQ2.5 junto a otro haplotipo sin riesgo para EC (DQ2.5/DQX), y los que lo presentaban junto al haplotipo DQ7.5 (DQ2.5/DQ7.5): OR=1,43 (IC 95%=0,8-2,55), $p=0,20$; o junto al haplotipo DQ8 (DQ2.5/DQ8): OR=1.71 (IC 95% 0.83-3.52), $p=0.12$. Tampoco detectamos diferencia en el riesgo causado por presentar el haplotipo DQ2.5 acompañado del haplotipo DQ8 (DQ2.5/DQ8) o DQ7.5 (DQ2.5/DQ7.5): OR=0,83 (IC 95%= 0,36-1,94), $p=0,65$.

Esto permite establecer dos categorías de riesgo dentro de los portadores de DQ2.5. La primera, en la que se englobarían los individuos DQ2.5 con doble dosis, confiere un riesgo casi 4 veces mayor (OR=3,90 95% IC=2,48-6,16, $p<10^{-7}$) que la segunda categoría de riesgo, constituida por individuos DQ2.5 de dosis única.

Dado el elevado porcentaje de portadores de DQ2.5 entre los pacientes celíacos, es necesario eliminar estos individuos para detectar factores de riesgo genético adicionales (Tabla 6, DQ2.5 negativos).

DQ8

Dentro de los individuos DQ2.5 negativos, el 53% de los pacientes presentan el haplotipo DQ8, que aparece solo en el 18% de los controles. Por tanto, dentro de los pacientes no DQ2.5, presentar DQ8 implica una $OR=5,0$ $95\% IC=1,81-13,91$ ($p=0,0010$). En este caso se observa también un efecto de dosis, puesto que presentar DQ8 en homocigosis confiere un riesgo significativamente superior que presentarlo en heterocigosis: $OR=33.86$ $95\% IC=2,18-1797,60$ ($p \text{ Fisher}_{2 \text{ colas}}=0,0038$). Esto ocurre tanto al considerar los DQ8 homocigotos frente a los heterocigotos carentes de riesgo adicional (DQ8/otro) ($OR=45,0$ $95\% IC=2,30-2408,80$, $p \text{ Fisher}_{2 \text{ colas}}=0,0035$), como al compararlo frente a los portadores de DQ8 en combinación con DQ2.2 ($OR=27,0$ $95\% IC=1,15-1490,96$, $p \text{ Fisher}_{2 \text{ colas}}=0,018$) o con DQ7.5 ($OR=24,0$ $95\% IC=1,02-1333,97$, $p \text{ Fisher}_{2 \text{ colas}}=0,024$). El riesgo conferido por la presencia del haplotipo DQ8 en heterocigosis no varía significativamente en función de la presencia de factores de riesgo adicionales (DQ2.2, DQ7.5 u otro haplotipo sin riesgo) ($p_{3*2}=0,77$), aunque parece ser ligeramente superior en presencia de DQ2.2 o DQ7.5.

Dado el escaso número de pacientes y controles que presentan el haplotipo DQ8 en homocigosis, nuestro estudio carece de la potencia estadística suficiente para evaluar su riesgo en comparación con los portadores del heterodímero DQ2.5.

DQ2.2

El 37% de los pacientes celíacos que no portan el heterodímero DQ2.5 presentan el haplotipo DQ2.2, frente al 22% de los controles. Estas diferencias no llegan a ser significativas ($p \text{ Fisher}_{2 \text{ colas}}=0,16$), pero probablemente debido a la escasa potencia estadística que existe por el bajo número de pacientes. De hecho, no

observamos diferencias significativas entre el riesgo conferido por presentar DQ8 en heterozigosis o presentar DQ2.2: OR=1,24 IC 95%=0,37-4,14 ($p=0,70$).

Se observa que los portadores del haplotipo DQ2.2 tienen más riesgo en nuestra cohorte que los que tienen genética no compatible o portan el haplotipo DQ7.5, con un riesgo casi 10 veces mayor (OR= 9,36 (1,73-93,17) p Fisher_{2 colas}=0,0027).

No se observa un efecto de dosis con respecto a DQ2.2, no detectándose diferencias estadísticamente significativas entre portadores de este haplotipo en homozigosis o heterozigosis (p Fisher=1,0).

DQ7.5

El haplotipo DQ7.5 aparece en el 11% de nuestros celíacos no DQ2.5 frente al 27% de los controles sin el citado haplotipo. Al comparar estos valores con los de los pacientes carentes de riesgo genético (DQX/DQX) no se obtuvo un resultado significativo (p Fisher_{2 colas}=0,20), pero el número de pacientes celíacos que se encuentra en esta categoría es muy bajo.

DQX/DQX

Ninguno de los pacientes celíacos carecía de genética de riesgo para EC, lo que ocurría en el 33% de los controles no DQ2.5, que suponen el 23% del total de individuos control.

4.1.3.- RIESGO EN FUNCIÓN DE LA PREVALENCIA

Los riesgos calculados en función de cada genotipo HLA se han expresado como *odds* (1: N), es decir, por cada celíaco hay N individuos sin la enfermedad. Los riesgos (*odds*) se han calculado para una prevalencia de EC de 1%. Calculando, además, la prevalencia real estimada en función del estudio PRECEM²⁹, los riesgos varían como se muestra en la tabla 7.

El rango del riesgo de EC según el genotipo HLA varía entre 1:12 para ciertos portadores de DQ2.5 a 1:4425 para los portadores del haplotipo DQ7.5. Como era esperable, el máximo riesgo (1:12) lo presentan los portadores de DQ2.5 con doble dosis de *HLA-DQB1*02*. Entre los portadores de DQ2.5 con una sola dosis (bien sea en configuración *cis* o *trans*), el riesgo a desarrollar EC varió de 1:35 a 1:49. La configuración *trans* confiere más riesgo en nuestra cohorte (1:35) que presentar el heterodímero DQ2.5 en configuración *cis*, ya sea junto a un haplotipo sin riesgo para EC (1:49) o junto a DQ8 (1:72), si bien esas diferencias no son significativas, y las categorías DQ2.5 *cis* y *trans* se asemejan en cuanto al riesgo.

El riesgo objetivado en los individuos que no presentan DQ2.5 es considerablemente menor, e inferior al 1:100 de la población general (1:854 para los portadores de DQ8 en heterocigosis, a 1:4425 para los portadores de DQ7.5). La excepción, que llama la atención, es el riesgo conferido a una doble dosis de DQ8, que es de 1:25.

Por último, aunque en nuestro estudio no llega a obtenerse un resultado significativo al comparar los portadores del haplotipo DQ7.5 entre enfermos y controles, llama la atención que es un haplotipo presente en ausencia de DQ2.2 en EC.

Tabla 7.- Variación del riesgo en función de la prevalencia de EC

GENOTIPOS HLA	Riesgo 1:100	Riesgo 1:79	Riesgo 1: 229
DQ2.5	1:31	1:25	1: 71
DQ2.5 doble dosis	1:12	1:9	1: 27
DQ2.5/DQ2.5	1:12	1:10	1: 28
DQ2.5/DQ2.2	1:12	1:9	1: 26
DQ2.5 una dosis	1:46	1:36	1: 104
DQ2.2/DQ7.5 *	1:35	1:28	1: 81
DQ2.5 <i>cis</i>	1:49	1:39	1: 112
DQ2.5/DQ8	1:72	1:57	1:165
DQ2.5/DQ7.5	1:60	1:47	1: 138
DQ2.5/DQX	1:42	1:33	1: 97
DQ2.5 NEGATIVOS	1:1752	1:1384	1: 4011
DQ8	1:605	1:478	1: 1386
DQ8/DQ8	1:25	1:20	1: 58
DQ8/DQ2.2	1:681	1:538	1: 1559
DQ8/DQ7	1:605	1:478	1: 1386
DQ8/DQX	1:1135	1:896	1: 2598
DQ2.2	1:1059	1:837	1:2425
DQ2.2/DQ2.2	-	-	-
DQ2.2/DQX	1:929	1:734	1:2128
DQ7.5	1:4425	1:3496	1: 10133
DQ7.5/DQ7.5	-	-	-
DQ7.5/DQX	1:3857	1:3047	1: 8834
DQX/DQX	-	-	-

*DQ2.5 *trans*; “DQX” indica sin riesgo

4.1.4.- CATEGORÍAS DE RIESGO GENÉTICO

En base a nuestros resultados, establecemos **4 categorías de riesgo en función del genotipo HLA** (Tabla 8):

Categoría 1: riesgo muy alto. Constituida por los portadores del heterodímero DQ2.5 con doble dosis del alelo *HLA-DQB1*02*, presente en homocigotos para el haplotipo DQ2.5 y portadores del genotipo DQ2.5/DQ2.2.

Categoría 2: riesgo alto. Constituida por los portadores del heterodímero DQ2.5 con dosis única del alelo *HLA-DQB1*02*, tanto en configuración *cis* (haplotipo DQ2.5) como configuración *trans* (genotipo DQ2.2/DQ7.5); y por los homocigotos DQ8 (doble dosis).

Categoría 3: riesgo moderado. Constituida por los portadores del heterodímero DQ8 en heterocigosis (dosis única) y heterodímero DQ2.2 ya sea en homocigosis (dosis doble) o heterocigosis (dosis única).

Categoría 4: riesgo bajo. Constituida por portadores del haplotipo DQ7.5 como único factor de riesgo HLA.

Tabla 8.- Clasificación de riesgo propuesta en función del genotipo HLA

Categoría	Genotipo HLA
Riesgo muy alto	DQ2.5/DQ2.5
	DQ2.5/DQ2.2
Riesgo alto	DQ2.5 <i>cis</i>
	DQ2.2/DQ7.5*
	DQ8/DQ8
Riesgo moderado	DQ8/otro
	DQ2.2/DQ2.2
	DQ2.2/DQX
Riesgo bajo	DQ7.5/DQ7.5
	DQ7.5/DQX

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo.

La presencia del haplotipo DQ8 en heterocigosis, ya sea junto a los haplotipos DQ2.2, DQ7.5 o con otro sin riesgo para EC, y del haplotipo DQ2.2 en homocigosis o heterocigosis, confiere un riesgo similar, que es casi 4 veces superior al riesgo que presenta el haplotipo DQ7.5, por ese motivo hemos decidido considerarlos dentro de la misma categoría de riesgo.

4.2.- COMPARACIONES GENÉTICO- CLÍNICAS

4.2.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS GENOTIPOS HLA

Algunos pacientes carecían de datos clínicos en nuestra base de datos, por lo que tuvieron que ser excluidos de los siguientes análisis. En total pudieron incluirse 463 pacientes.

En la Tabla 9, se muestran los 463 pacientes distribuidos de acuerdo a su genética HLA de riesgo. Como era esperable, las frecuencias observadas son similares a las del grupo total de pacientes considerado inicialmente, por lo que no es necesaria una descripción adicional. Agrupamos todos los pacientes heterocigotos DQ8 (no DQ2.5) por el escaso número de pacientes en esas categorías con el fin de posibilitar las estratificaciones posteriores.

Tabla 9.- Frecuencia de los distintos genotipos HLA en nuestra muestra de pacientes celíacos

Genotipo HLA	N	%
DQ2.5/DQ2.5	54	11,7
DQ2.5/DQ2.2	135	29,2
DQ2.5/DQ7.5	38	8,2
DQ2.5/DQX	138	29,8
DQ2.5/DQ8	20	4,3
DQ2.2/DQ7.5*	60	13,0
DQ8/DQ8	2	0,4
DQ8/otro	8	1,7
DQ2.2/DQX	7	1,5
DQ7.5/DQX	1	0,2

*DQ2.5 *trans*; "otro" indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; "DQX" indica sin riesgo.

En la figura 7 se muestra la distribución de las categorías HLA, reflejándose el claro predominio de los individuos portadores de DQ2.5.

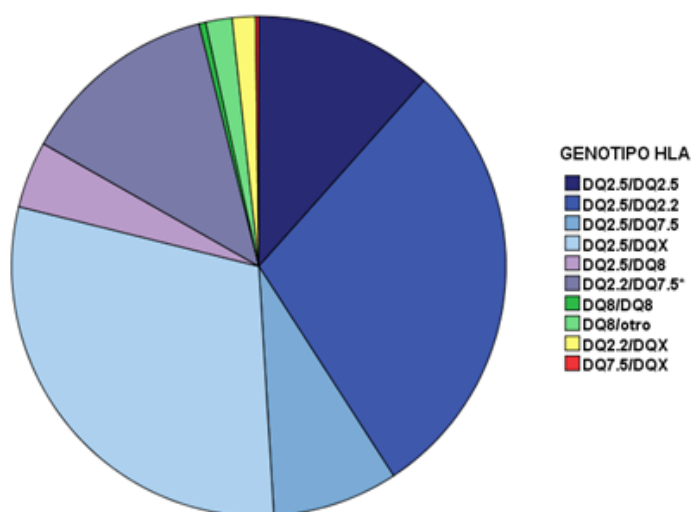


Figura 7-. Diagrama de sectores mostrando los distintos genotipos HLA de riesgo en nuestra muestra de pacientes celíacos. *DQ2.5trans; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo.

4.2.2- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACIÓN CELÍACA ESTUDIADA

SEXO

La prevalencia de EC en nuestra serie es mayor en niñas, apareciendo un total de 288 mujeres (62,2%) y 175 hombres (37,8%) (Figura 8). En todas las categorías HLA predomina el sexo femenino.

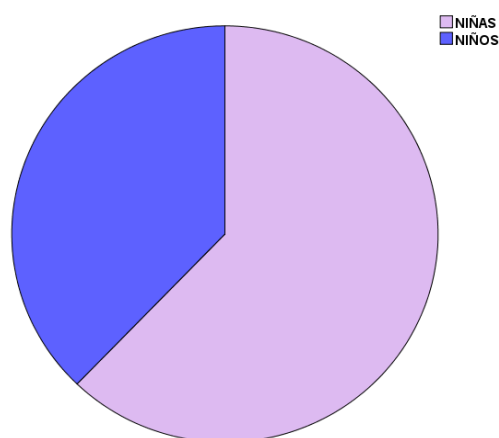


Figura 8.-Diagrama de sectores mostrando la distribución por sexo en nuestra muestra de pacientes celíacos.

EDAD AL DIAGNÓSTICO

La edad media de presentación de los síntomas fue de $32,0 \pm 1,4$ meses, oscilando entre los 7 meses y los 14 años (Figura 9). Los 24 meses de edad constituyen el momento más frecuente de aparición de los síntomas (moda), sin embargo, el inicio de la sintomatología continúa siendo elevado hasta los 36 meses, es decir, los 3 años. Así, se observa que el 75% del total de pacientes presenta síntomas antes de esa edad. Este hecho es ya conocido en la literatura, por ello los pacientes fueron clasificados en dos grupos: inicio de la sintomatología antes de los 3 años (349 pacientes, 75,4% del total), y aparición de síntomas a una edad igual o mayor de 36 meses (114 pacientes, 24,6% del total).

La edad media de los pacientes que se diagnosticaron antes de los 3 años fue de $18,7 \pm 0,28$ meses, oscilando entre los 7 y los 30 meses, y para los que se diagnosticaron a los 3 años o posteriormente a esta edad, la media fue de $6 \pm 0,3$ años ($72,5 \pm 3,4$ meses), oscilando entre los 3 y los 14 años.

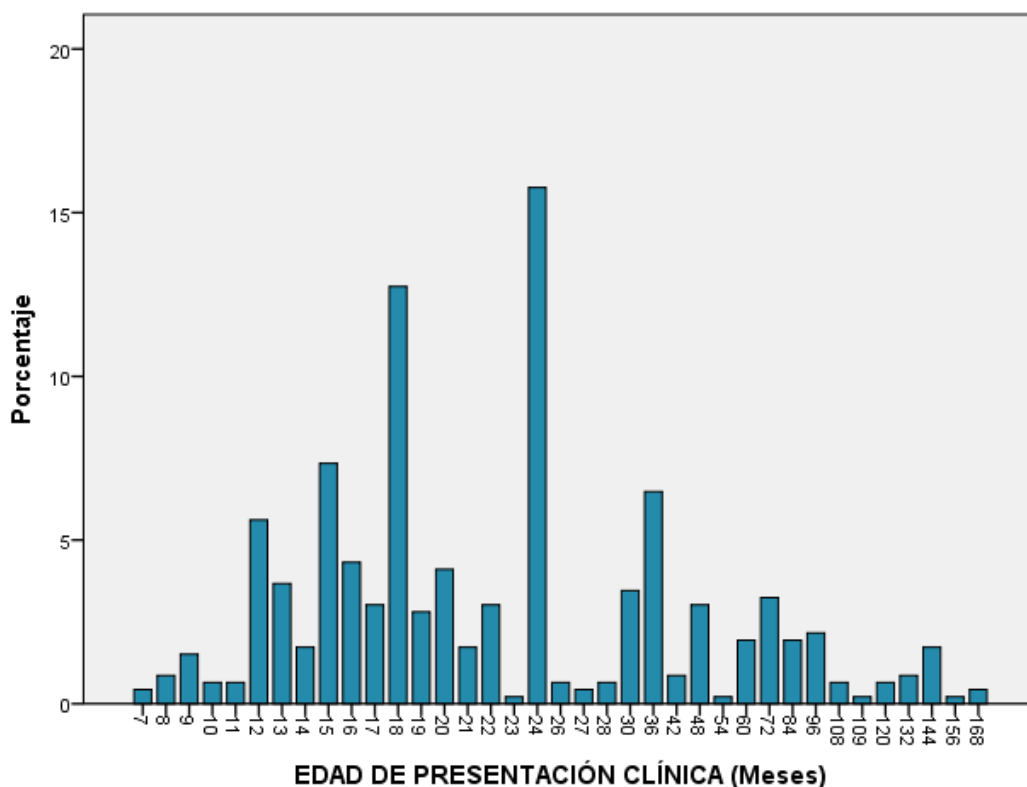


Figura 9.- Distribución por edad de aparición de los síntomas en meses de los pacientes celíacos estudiados.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS AL DIAGNÓSTICO

Atendiendo a la forma de presentación al diagnóstico dividimos a los pacientes en dos grandes grupos: los que presentaron sintomatología clásica, que constituyen el 86% del total, y aquellos con sintomatología no clásica, asintomáticos u oligosintomáticos, que en su mayoría pertenecen a grupos de riesgo (Figura 10).

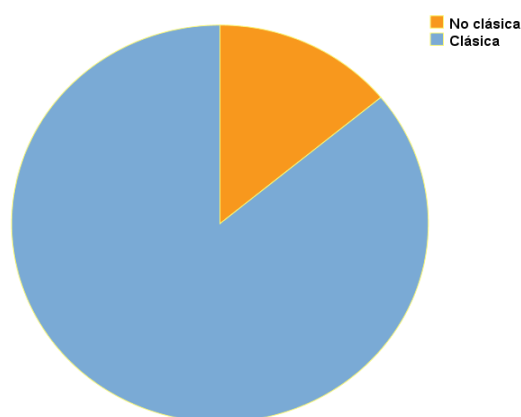


Figura 10.- Diagrama de sectores mostrando la forma de presentación clínica en nuestra muestra de pacientes celíacos.

MARCADORES SEROLÓGICOS

Todos los pacientes diagnosticados de EC de nuestra muestra, exceptuando dos niños, presentaron algún marcador serológico positivo. Por un lado, consideramos la positividad o no frente a cada anticuerpo evaluado: ATG2, EMA y AGA. Además, en el caso de los anticuerpos ATG2, establecimos distintos grupos atendiendo a los títulos de anticuerpos reflejados en las historias clínicas, clasificando a los pacientes en aquellos con títulos: elevados (mayor de 100 U/ml), moderados (30-100 U/ml), bajos (12-30 U/ ml) y negativos (<12 U/ ml). Los resultados se muestran a continuación.

ANTITRANSGLUTAMINASA TIPO 2 (ATG2)

La serología ATG2 fue determinada en 208 pacientes. Solo 10 pacientes (4,8% del total de determinaciones) ofrecieron un resultado negativo, aunque en 4 de ellos se observó positividad frente a EMA, lo que sugiere un falso negativo del kit ATG2

empleado, en cuyo caso el porcentaje de individuos ATG2 negativos de nuestra muestra desciende a 1,9%.

En cuanto al título de ATG2 (Tabla 10), la gran mayoría de los pacientes (69%) mostraron títulos elevados, presentando solo el 4% de los mismos valores positivos inferiores a 30 UI/ml.

Tabla 10.- Frecuencia de pacientes mostrando los distintos niveles de ATG2

	N	%
12-30 UI/ml	7	4,1
31-100 UI/ml	46	26,7
>100 UI/ml	119	69,2

Todos los pacientes con ATG2 negativo salvo dos iniciaron la sintomatología a una edad inferior a 36 meses. Los dos pacientes que además eran negativos para el resto de anticuerpos evaluados (EMA y AGA), presentaron clínica clásica con edad inferior a 2 años (12 y 24 meses) y un grado de lesión Marsh 3c en la biopsia. Uno de ellos además asociaba déficit de IgA, y ambos presentaron recaída clínica, serológica e histológica evolutivamente tras provocación.

ANTICUERPOS ANTIENDOMISIO (EMA)

Los EMA se determinaron en 122 pacientes, habiendo 12 pacientes negativos (9,8%). De esos 12 pacientes, todos eran ATG2 positivos salvo dos, los mismos que se han comentado en el apartado anterior. Exceptuando un paciente, todos iniciaron la sintomatología a una edad inferior a 36 meses.

Los EMA están dirigidos contra la TG2, el mismo antígeno que detectan los ATG2. Dada la similitud entre ambos marcadores desde el punto de vista diagnóstico, y que en nuestra muestra no fueron determinados en el mismo subconjunto de pacientes, en los análisis posteriores decidimos considerarlos de manera conjunta, de modo que un individuo positivo para ATG2/EMA podía haber ofrecido un resultado

positivo al evaluar ATG2, EMA o ambos. El total de niños evaluados para ATG2 y/o EMA fue de 275, detectándose en 12 de ellos (2,6%) un resultado negativo.

ANTICUERPOS ANTIGLIADINA (AGA)

La serología para AGA IgA se determinó en 317 pacientes, siendo positiva en 282 (89%), y para AGA IgG en 196 pacientes, siendo positiva en 186 (94,9%). De los 14 pacientes con AGA IgA negativos, dos pacientes mostraron también resultados negativos en EMA y ATG2; y un paciente era ATG2 negativo y EMA positivo, con lesión histológica grado Marsh 3b. En los pacientes AGA positivos en los que se determinaron ATG2 y EMA, uno o ambos fueron positivos.

DATOS HISTOLÓGICOS

El 90% de los pacientes tiene una grado de lesión vellositaria grave (Marsh 3b y Marsh 3c), siendo mayoría el grado Marsh 3c (Tabla 11).

Tabla 11.- Frecuencia del grado de lesión histológica objetivado

	N	%
Normal/ Marsh 1	2	0,4
Marsh 2	10	2,2
Marsh 3a	29	6,3
Marsh 3b	134	29,3
Marsh 3c	283	61,8

4.2.3.- ASOCIACIÓN ENTRE VARIABLES

La asociación entre las distintas variables fue investigada mediante tablas de contingencia.

La mayoría de las variables evaluadas mostraron diferencias significativas entre los dos grupos de edad considerados (<3 y ≥3 años) (Tabla 12):

- Presentación clínica: la sintomatología clásica es más frecuente en el grupo de menor edad (96% vs. 54%).

- Grado de lesión histológica: en los menores de 3 años hay un predominio de la lesión más grave, Marsh 3c.
- ATG2/EMA: la positividad alcanza el 100% en los mayores de 3 años, sin embargo los resultados negativos solo se observan en el grupo < 3 años (6,5%).
- AGA IgA y AGA IgG: el resultado positivo es más frecuente en ambos grupos de edad, pero es mayor el porcentaje de serología positiva frente a gliadina (tanto IgA como IgG) en los menores de 3 años (94% vs. 80% y 95% vs. 87%, respectivamente).

Tabla 12.- Variables asociadas a la edad de aparición de los síntomas

	Edad		p
	< 3 años	≥ 3 años	
Presentación clínica	N (%)		<10 ⁻³
Clásica	336 (96,3)	62 (54,4)	
No clásica	13 (3,7)	52 (45,6)	
Grado lesión	N (%)		0,004*
Marsh 1	2 (0,6)	0	
Marsh 2	7 (2)	3 (2,7)	
Marsh 3a	17 (4,9)	12 (10,6)	
Marsh 3b	90 (26,1)	44 (38,9)	
Marsh 3c	229 (66,4)	54 (47,8)	
ATG2/EMA	N (%)		0,010*
Positivo	173 (93,5)	90 (100)	
Negativo	12 (6,5)	0	
AGA IgA	N (%)		0,001
Positivo	227 (94,2)	55(79,7)	
Negativo	14 (5,8)	14 (20,3)	
AGA IgG	N (%)		0,086*
Positivo	145 (94,5)	26 (86,7)	
Negativo	7 (4,6)	4 (13,3)	

* p calculada mediante el test exacto de Fisher a 2 colas

Con la variable “sexo”, se observó un ligero aumento de niñas en el grupo de menor edad de aparición de síntomas (63% vs. 59%), pero que carecía de significación estadística ($p=0,44$). Los niveles de ATG2 tampoco se vieron asociados con la edad ($p_{\text{Fisher 2 colas}}=0,221$).

Puesto que la edad está relacionada con casi todas las variables estudiadas, en posteriores análisis estratificamos los resultados según la edad de aparición de síntomas.

Al analizar la relación de la lesión histológica con las demás variables, observamos su asociación con sexo (Tabla 13). Aunque solo se observa un valor significativo en el estrato de menor edad, no existen diferencias significativas entre mayores y menores de 3 años ($p_{\text{homogeneidad}} > 0,1$). Por tanto, podemos considerar todos los niños en conjunto, observando que en el sexo masculino hay un predominio significativo de lesiones histológicas más leves (42% vs. 36% en niñas).

Tabla 13.- Asociación entre sexo y grado de lesión vellositaria, estratificado por edad

Edad	Sexo	Grado de lesión histológica					p
		Normal/ Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	Marsh 3b	Marsh 3c	
<3 años (N/%)	M	2/ 0,9	2/ 0,9	7/ 3,2	57/26	151/ 68,9	0,048
	H	0	5/ 4,0	10/ 7,9	33/26,2	78/61,90	
≥ 3 años (N/%)	M		2/ 3	5/ 7,5	27/ 40,3	33/ 47,3	0,649
	H		1/ 2,2	7/ 15,2	17/ 37	21/ 45,7	
Total	M	2/ 0,7	4/ 1,4	12/ 4,2	84/ 29,4	184/ 64,3	0,037
	H	0	6/ 3,5	17/ 9,9	50/ 29,1	99/ 57,6	

M=mujeres; H=hombres.

Con “presentación clínica”, observamos que es más frecuente un grado de lesión severa (Marsh 3c) en los casos de presentación clásica, disminuyendo progresivamente la frecuencia de pacientes a medida que la lesión es más leve en el grupo de menores de 3 años (Tabla 14). En el grupo de mayor edad, si bien la lesión Marsh 3c también es

más frecuente en la presentación clásica, no se observa la disminución de frecuencia con la levedad de la lesión. Las diferencias entre ambos grupos no llegan a ser significativas (p homogeneidad=0,14) y en conjunto se observa un aumento significativo de la lesión Marsh 3c en niños con presentación clínica clásica ($p=0,011$).

Tabla 14.- Asociación entre presentación clínica y grado de lesión vellositaria, estratificado por edad

Edad	Presentación	Grado de lesión histológica					p
		Normal/ Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	Marsh 3b	Marsh 3c	
<3 años (N/%)	No clásica	1/ 7,7	1/ 7,7	1/ 7,7	6/46,2	4/ 30,8	0,009
	Clásica	1/ 0,3	6/ 1,8	16/ 4,8	84/25,3	225/67,8	
≥ 3 años (N/%)	No clásica	-	1/ 2%	5/ 9,8	24/ 47,1	21/ 41,2	0,5
	Clásica	-	2/ 3,2	7/ 11,3	20/ 32,3	33/ 53,2	
Total	No clásica	2/ 1,6	1/ 3,1	6/ 9,4	30/ 46,9	25/ 39,1	0,004
	Clásica	2/ 0,4	10/ 2,2	29/ 6,3	134/ 29,3	283/ 61,8	

La mayoría de los pacientes con ATG2/EMA positivos tienen un grado de daño histológico moderado-severo, pero la relación entre la positividad de ATG2/EMA y lesión histológica no llega a ser significativa (Tabla 15), lo cual podría deberse a falta de potencia estadística. De nuevo observamos asociación entre el título de ATG2 y el grado de lesión vellositaria, con un mayor título de ATG2 a mayor grado de daño histológico, pero sin llegar a alcanzar significación.

Tabla 15.- Asociación entre positividad ATG2/EMA y título de ATG2 con lesión histológica

Edad	ATG2/ EMA	Título ATG2* (UI/ml)	Grado de lesión histológica					p
			Normal/ Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	Marsh 3b	Marsh 3c	
<3 años (N/%)	(-)		0	1(8,2)	2(16,7)	2(16,7)	7(58,3)	0,164*
	(+)		2	5(2,9)	10(5,8)	52(30,2)	103(59,9)	
		12-30		0	1 (50)	1(50)	0	0,224
		31-100		0	3 (10,7)	10(35,7)	15(53,6)	
		>100		2(2,7)	4 (5,3)	28(37,3)	41(54,7)	
≥3 años (N/%)	(-)		0	0	0	0	0	0,195*
	(+)		0	3(3,4)	9 (10,1)	36(40,4)	41(46,1)	
		12-30		0	2(40)	2(40)	1 (20)	0,120
		31-100		1(5,6)	3(16,7)	7(38,9)	7(38,9)	
		>100		2(4,7)	1(2,3)	19(44,2)	21(48,8)	

No disponemos del título de anticuerpo de todos los pacientes con determinación de ATG2.

* p calculada mediante el test exacto de Fisher a 2 colas

En relación a los AGA de tipo IgA, se observa como el porcentaje de pacientes con anticuerpos positivos aumenta con la gravedad de la lesión. No se obtienen valores significativos, pero hay que tener en cuenta el bajo número de pacientes con serología AGA negativa. Esto parece ocurrir en ambos grupos de edad, de hecho las diferencias entre ambos grupos no son significativas si consideramos la frecuencia de Marsh 3c vs las lesiones más leves (p homogeneidad=0,64) y en el total de pacientes existe un aumento significativo de los pacientes AGA positivos que presentan Marsh 3c ($p=0,035$) (Tabla 16).

El número de pacientes en que se determinó AGA de tipo IgG es demasiado bajo para obtener resultados concluyentes.

Tabla 16.- Asociación entre AGA IgA y AGA IgG con lesión histológica

AGA IgA		Grado de lesión histológica					p
Edad		Normal/ Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	Marsh 3b	Marsh 3c	
<3 años (N/%)	Negativo	0	1 (7,1)	2 (14,3)	5 (35,7)	6 (42,9)	0,078
	Positivo	2 (0,9)	4 (1,8)	9 (4)	57 (25,3)	153 (68)	
≥ 3 años (N/%)	Negativo				8 (61,5)	5 (38,5)	0,139
	Positivo	0	2 (3,6)	7 (12,7)	16 (29,1)	30 (54,5)	
AGA IgG		Normal/ Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	Marsh 3b	Marsh 3c	
<3 años (N/%)	Negativo			1 (14,3)	1 (14,3)	5 (71,4)	0,527
	Positivo	1 (0,7)	3 (2,1)	6 (4,1)	38 (26,2)	97 (66,9)	
≥ 3 años (N/%)	Negativo			0	2 (50)	2 (50)	1
	Positivo			3 (11,5)	11 (42,3)	12 (46,2)	

La presentación clínica también se asocia de manera significativa con la positividad de anticuerpos frente a AGA IgA en mayores de 3 años (93% con anticuerpos positivos vs. 59% con anticuerpos negativos, $p=0,001$), pero no en menores (95% con anticuerpos positivos vs. 83% con anticuerpos negativos, $p=0,148$) (Tabla 17). Sin embargo, ambos grupos no son significativamente diferentes (p homogeneidad=0,46), y la falta de significación en los menores de 3 años se debe probablemente al menor efecto observado en este grupo. En cuanto a la positividad frente a AGA IgG (Tabla 18) no se observan valores significativos, aunque el efecto en el grupo de mayor edad está próximo a la significación y en el grupo de sintomatología menor de 3 años el número de pacientes con presentación no clásica es demasiado bajo.

Tabla 17.- Asociación entre presentación clínica y positividad de AGA IgA

Edad	Presentación	Resultados de AGA IgA		Significación
		Positivo	Negativo	p
<3 años (N/%)	No clásica	10 (83,3)	2 (16,7)	0,148*
	Clásica	217 (94,8)	12 (5,2)	
≥ 3 años (N/%)	No clásica	16 (59,3)	11 (40,7)	0,001*
	Clásica	39 (92,9)	3 (7,1)	
Total	No clásica	26 (66,7)	13 (13,3)	<10 ⁻³ *
	Clásica	256 (94,5)	15 (5,5)	

* p calculada mediante el test exacto de Fisher a 2 colas

Tabla 18.- Asociación entre presentación clínica y positividad de AGA IgG

Edad	Presentación	Resultados de AGA IgG		p
		Positivo	Negativo	
<3 años (N/%)	No clásica	7 (100)	0	1
	Clásica	138 (95,2)	7 (4,8)	
≥ 3 años (N/%)	No clásica	7 (70)	3 (30)	0,095
	Clásica	19 (95)	1 (5)	
Total	No clásica	14 (82,4)	3 (17,6)	0,070
	Clásica	157 (95,2)	8 (4,8)	

4.2.4.-ASOCIACIÓN ENTRE RIESGO HLA Y RESTO DE VARIABLES

Se realizó primero un análisis bivalente para analizar la relación de cada uno de los parámetros a relacionar (sexo, edad de aparición de sintomatología, presentación clínica, positividad y niveles de anticuerpos, y grado de lesión vellositaria) con la variable “genética HLA”.

En primer lugar analizamos la posible asociación entre la edad de aparición de los síntomas y la genética HLA. Viendo los resultados (Tabla 19) llama la atención que la edad de comienzo parece ser mayor en los portadores de DQ8, incluyendo aquellos que lo portan en combinación con DQ2.5. Al hacer la comparación entre los

portadores de DQ8 (DQ2.5/DQ8, DQ8/DQ8 y DQ8/DQX) y el resto de las categorías (DQ2.5/DQ2.5, DQ2.5/DQ2.2, DQ2.5/DQ7.5, DQ2.5/DQX, DQ2.5 *trans* y DQ2.2) se obtiene un resultado significativo: $p=0.002$.

Tabla 19.- Asociación entre HLA y edad

Genotipo HLA	Edad (N/%)	
	<3 años	≥ 3 años
DQ2.5/DQ2.5	39 (72,2)	15 (27,8)
DQ2.5/DQ2.2	100 (74,1)	35 (25,9)
DQ2.5/DQ7.5	33 (86,8)	5 (13,2)
DQ2.5/DQX	112 (81,2)	26 (18,8)
DQ2.5/DQ8	11 (55)	9 (45)
DQ2.2/DQ7.5*	44 (73,3)	16 (26,7)
DQ8/DQ8	1 (50)	1 (50)
DQ8/otro	3 (37,5)	5 (62,5)
DQ2.2/DQX	5 (71,4)	2 (28,6)
DQ7.5/DQX	1 (100)	0

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo.

Si consideramos la edad como variable continua, vemos que los portadores de DQ8 presentan síntomas a una edad media de $4,2 \pm 0,6$ años (rango de 1 a 14 años), frente al resto de pacientes en que los síntomas aparecen como media a los $2,5 \pm 0,1$ años (rango de 7 meses a los 14 años). Ambas medias son significativamente diferentes (p obtenida con la prueba U de Mann Withney= 0,001).

Dada esta asociación observada, así como la asociación de la edad en el momento de aparición de los síntomas con varias de las variables estudiadas, todos los análisis posteriores de las relaciones con el HLA se realizaron estratificando por edad.

En cuanto a la asociación con el sexo (Tabla 20), las diferentes categorías genéticas se distribuyen de manera similar en ambos sexos en el grupo de menores de 3 años. Sin embargo, en el grupo de mayor edad la distribución es más heterogénea, aunque el tamaño muestral es más reducido y las diferencias no llegan a ser significativas ($p_{\text{Fisher 2 colas}}=0,092$).

Tabla 20.- Asociación entre HLA y sexo, estratificada por edad

Genotipo HLA	< 3 años		≥ 3 años	
	M	H	M	H
DQ2.5/DQ2.5	23 (10,4)	16 (12,5)	5 (7,5)	10 (21,3)
DQ2.5/DQ2.2	63 (28,5)	37 (28,9)	20 (29,9)	15 (31,9)
DQ2.5/DQ7.5	24 (10,9)	9 (7)	1 (1,5)	4 (8,5)
DQ2.5/DQX	67 (30,3)	45 (35,2)	16 (23,9)	10 (21,3)
DQ2.5/DQ8	7 (3,2)	4 (3,1)	8 (11,9)	1 (2,1)
DQ2.2/DQ7.5*	30 (13,6)	14 (0,9)	11 (16,4)	5 (10,6)
DQ8/DQ8	0	1 (0,8)	1 (1,5)	0
DQ8/otro	2 (0,9)	1 (0,8)	4(6)	1 (2,1)
DQ2.2/DQX	4(1,8)	1 (0,8)	1 (1,5)	1 (2,1)
DQ7.5/DQX	1 (0,5)	0	0	0

M=mujeres; H=hombres. *DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo.

La asociación de la genética HLA con la presentación clínica se muestra en la tabla 21. No parece existir asociación entre ambas variables. Los dos pacientes con el genotipo DQ8/DQ8 debutaron sin síntomas clásicos (uno por familiaridad a los 20 meses y otro por pertenecer a un grupos de riesgo, presentar DM1, a los 12 años).

Tabla 21.- Asociación entre HLA y presentación clínica, estratificada por edad

Genotipo HLA	< 3 años N (%)		≥ 3 años N (%)	
	Clásica	No clásica	Clásica	No clásica
DQ2.5/DQ2.5	37 (94,9)	2 (5,1)	9 (60)	6 (40)
DQ2.5/DQ2.2	99 (99)	1 (1)	21 (60)	14 (40)
DQ2.5/DQ7.5	32 (97)	1 (3)	3 (60)	2 (40)
DQ2.5/DQX	105 (93,8)	7 (6,2)	16 (61,5)	10 (38,5)
DQ2.5/DQ8	11 (100)	0	2 (22,2)	7 (77,8)
DQ2.2/DQ7.5*	43 (97,7)	1 (2,3)	7 (43,8)	9 (56,2)
DQ8/DQ8	0	1 (100)	0	1 (100)
DQ8/otro	3 (100)	0	3 (60)	2 (40)
DQ2.2/DQX	5(100)	0	1 (50)	1 (50)
DQ7.5/DQX	1 (100)	-	-	-

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo.

Los ATG2/EMA fueron positivos en todos los pacientes con sintomatología a los 3 años o posterior. En el caso de individuos de debut más temprano, la mayoría de los pacientes presentaron estos anticuerpos, pero la seropositividad se observó a una frecuencia significativamente superior en los pacientes con genética HLA de máximo riesgo: 98,7% vs 90%, $p_{\text{Fisher 2 colas}}=0,029$ (Tabla 22).

Tabla 22.- Asociación entre HLA y positividad de ATG2/EMA, estratificada por edad

Genotipo HLA	< 3 años		≥ 3 años	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
DQ2.5/DQ2.5	24 (100)	0	13 (100)	0
DQ2.5/DQ2.2	50 (98)	1 (2)	23 (100)	0
DQ2.5/DQ7.5	17 (94,4)	1 (5,6)	4 (100)	0
DQ2.5/DQX	53 (88,3)	7 (11,7)	21 (100)	0
DQ2.5/DQ8	6 (100)	0	8 (100)	0
DQ2.2/DQ7.5*	15 (83,3)	3 (16,7)	14 (100)	0
DQ8/DQ8	1 (100)	0	1 (100)	0
DQ8/otro	3 (100)	0	5 (100)	0
DQ2.2/DQX	4 (100)	0	1 (100)	0

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo

En caso de positividad de ATG2, los títulos mayores de 100 UI/ml son los más frecuentes en todas las categorías de riesgo, menos en el caso de individuos DQ2.2/DQX del grupo menor de 3 años, sin embargo solo hay tres pacientes con ese genotipo (Tabla 23). Llamam la atención los homocigotos DQ2.5 del grupo de menor edad, en el que existe un claro predominio de individuos con ATG2 positivos a títulos altos ($p=0,10$ al compararlos con el resto de individuos de su grupo de edad).

Tabla 23.- Asociación entre HLA y título de ATG2

Genotipo HLA	< 3 años			≥ 3 años		
	12-30 UI/ml	31-100 UI/ml	>100 UI/ml	12-30 UI/ml	31-100 UI/ml	>100 UI/ml
DQ2.5/DQ2.5	0	1 (7,1)	13 (92,9)	0	4 (40)	6 (60)
DQ2.5/DQ2.2	0	11 (39,3)	17(60,7)	1 (5,9)	3 (17,6)	13 (76,5)
DQ2.5/DQ7.5	0	2 (20)	8 (80)	1 (100)	0	0
DQ2.5/DQX	0	10 (26,3)	28 (73,7)	3 (20)	4 (26,7)	8 (53,3)
DQ2.5/DQ8	1 (33,3)	0	2 (66,7)	0	2 (25)	6 (75)
DQ2.2/DQ7.5*	0	3 (37,5)	5 (62,5)	0	4 (40)	6 (60)
DQ8/DQ8	0	0	1 (100)	0	0	1 (100)
DQ8/otro	-	-	-	0	1 (25)	3 (75)
DQ2.2	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)	0	0	1 (100)

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo

En cuanto a los anticuerpos AGA, tanto de tipo IgA como IgG, no se objetivan diferencias entre su positividad y los genotipos HLA (Tablas 24 y 25). Sin embargo, existen muy pocos individuos con los genotipos HLA menos frecuentes en los que se hayan determinado estos anticuerpos, por lo que los resultados no se pueden considerar concluyentes.

Tabla 24.- Asociación entre HLA y positividad de AGA IgA estratificada por edad

Genotipo HLA	< 3 años		≥ 3 años	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
DQ2.5/DQ2.5	23 (95,8)	1 (4,2)	4 (80)	1 (20)
DQ2.5/DQ2.2	63 (94)	4 (6)	20 (80)	5 (20)
DQ2.5/DQ7.5	23 (92)	2 (8)	4 (100)	0
DQ2.5/DQX	74 (94,9)	4 (5,1)	17 (77,31)	5 (22,7)
DQ2.5/DQ8	7 (100)	0	1 (50)	1 (50)
DQ2.2/DQ7.5*	29 (93,5)	2 (6,5)	6 (85,7)	1 (14,3)
DQ8/DQ8	1 (100)	0	-	-
DQ8/otro	3 (100)	0	2 (66,7)	1 (33,3)
DQ2.2/DQX	3 (75)	1 (25)	1(100)	0
DQ7.5/DQX	1 (100)	0	-	-

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo

Tabla 25.- Asociación entre HLA y positividad de AGA IgG estratificada por edad

Genotipo HLA	< 3 años		≥ 3 años	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
DQ2.5/DQ2.5	19 (100)	0	3 (75)	1 (25)
DQ2.5/DQ2.2	41 (95,3)	2 (4,7)	11 (84,6)	2 (15,4)
DQ2.5/DQ7.5	14(93,3)	1 (6,7)	2 (100)	0
DQ2.5/DQX	50 (94,3)	3 (5,7)	6 (85,7)	1 (14,3)
DQ2.5/DQ8	6 (100)	0	1 (100)	0
DQ2.2/DQ7.5*	13 (100)	0	2 (100)	0
DQ8/DQ8	-	-	-	-
DQ8/otro	-	-	1 (100)	0
DQ2.2/DQX	1 (50)	1 (50)	-	-
DQ7.5/DQX	1 (100)	0	-	-

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo

Tampoco detectamos asociación significativa con el grado de lesión histológica al considerar todas las categorías de riesgo HLA (Tabla 26). Sin embargo, existen muy pocos individuos en las categorías de riesgo bajo y moderado, por lo que nuestro estudio carece de la potencia suficiente para abordar este análisis. La inspección de los datos parece indicar que los individuos con mayor riesgo genético HLA, es decir, los portadores de DQ2.5 con doble dosis de *HLA-DQB1*02*, presentan mayor frecuencia de lesión histológica más severa. Así, el 94,9% de los individuos de máximo riesgo con síntoma previos a los 3 años presentaron una lesión Marsh 3b o Marsh 3c, frente al 90,9% del resto de los celíacos de esa categoría. En el caso de individuos con aparición de síntomas posterior a esa edad, estos porcentajes fueron del 94% y 81%, respectivamente. Puesto que no existen diferencias significativas entre ambos grupos de edad (p homogeneidad=0,40), podemos agruparlos, observando que presentar

genética HLA de máximo riesgo aumenta significativamente el riesgo a presentar lesiones histológicas más severas ($p=0,0248$).

Tabla 26.- Relación entre HLA y grado de lesión histológica

Genotipo HLA	Grado de lesión histológica en < 3 años				
	Normal /Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	Marsh 3b	Marsh 3c
DQ2.5/DQ2.5	0	0	2 (5,1)	14 (35,9)	23 (59)
DQ2.5/DQ2.2	1 (1)	1 (1)	3 (3,1)	23 (23,5)	70 (71,4)
DQ2.5/DQ7.5	0	1 (3)	1 (3)	10 (30,3)	21 (63,6)
DQ2.5/DQX	1 (0,9)	2 (1,8)	7 (6,3)	30 (27)	71 (64)
DQ2.5/DQ8	0	0	0	1 (9,1)	10 (90,9)
DQ2.2/DQ7.5*	0	2 (4,7)	3 (7)	11 (25,6)	27 (62,8)
DQ8/DQ8	0	0	0	0	1 (100)
DQ8/otro	0	0	0	1 (33,3)	2 (66,7)
DQ2.2/DQX	0	1 (20)	1 (20)	0	3 (60)
DQ7.5/DQX	0	0	0	0	1 (100)
Grado de lesión histológica en ≥ 3 años					
DQ2.5/DQ2.5	-	0	1 (6,7)	7 (46,7)	7 (46,7)
DQ2.5/DQ2.2	-	0	2 (5,7)	14 (40)	19 (54,3)
DQ2.5/DQ7.5	-	0	3 (60)	1 (20)	1 (20)
DQ2.5/DQX	-	2 (7,7)	3 (11,5)	8 (30,8)	13 (50)
DQ2.5/DQ8	-	1 (11,1)	0	5 (55,6)	3 (33,3)
DQ2.2/DQ7.5*	-	0	3 (18,8)	6 (37,5)	7 (43,8)
DQ8/DQ8	-	0	0	1 (100)	0
DQ8/otro	-	0	0	2 (50)	2 (50)
DQ2.2/DQX	-	0	0	0	2 (100)
DQ7.5/DQX	-	-	-	-	-

*DQ2.5 *trans*; “otro” indica cualquier DQ diferente de DQ2.5 y DQ8; “DQX” indica sin riesgo

4.2.5.- OTROS ASPECTOS

FAMILIARES

Entre los pacientes estudiados, 22 (4,8%) presentaban familiares de primer grado afectados con EC. De estos, 15 fueron estudiados por despistaje de la enfermedad debido a pertenecer a un grupo de riesgo y 7 por presentar sintomatología clásica, además de familiaridad. Todos eran portadores de alelos de riesgo para EC (Tabla 27).

Tabla 27.- Distribución de los haplotipos HLA de riesgo en pacientes con familiaridad

	Genotipo HLA	N/ %
DQ2	DQ2.5/DQ2.5	6 (27,3)
	DQ2.5/DQ2.2	8 (36,4)
	DQ2.5 /DQX	7 (31,8)
DQ8	DQ8/DQ8	1 (4,5)

Comparando estas frecuencias con las observadas en el total de pacientes (Tabla 6), vemos que la frecuencia de individuos con los genotipos DQ2.5/DQX y DQ2.5/DQ2.2 en el grupo de pacientes con familiaridad es similar al aproximadamente 29% observado en ambas categorías respecto al total ($p=0,81$ y $p=0,46$, respectivamente), pero los individuos homocigotos tanto DQ2.5 como DQ8 aparecen a una frecuencia significativamente mayor que la observada en nuestra muestra de EC y que era del 12% para DQ2.5/DQ2.5 y 1% para DQ8/DQ8 ($p=0,032$ y $p=0,0035$, respectivamente).

ENFERMEDADES ASOCIADAS

Las enfermedades asociadas (EA) a EC observadas en nuestra muestra y los genotipos HLA de los pacientes con cada una de ellas se muestran en la tabla 28. Hay 28 pacientes con EA. Observamos pacientes con fibrosis quística, síndrome de Down, déficit de IgA, dermatitis herpetiforme, ataxia, epilepsia, artritis psoriásica, DM1, con síndrome de Turner, Noonan o Wilson, y con hepatitis autoinmune. No se analizó la

presencia o no de enfermedades tiroideas autoinmunes por ser la prevalencia muy pequeña en el momento del diagnóstico.

Tabla 28.- Enfermedades asociadas

	Genotipo HLA	N/%	EA	N*
DQ2	DQ2.5/DQ2.5	3/ 9,7	Déficit IgA	1/10
			DM1	1/7
			DH	1/3
	DQ2.5/DQ2.2	5/ 16,1	Déficit IgA	4/10
			Sd Noonan	1
	DQ2.2/DQ7.5*	2/ 6,4	Déficit IgA	1/10
			Sd Down	1/4
	DQ2.5/DQ8	2/ 6,4	Déficit IgA	1/10
			DM1	1/7
	DQ2.5/DQ7.5	2/ 6,4	Déficit IgA	1/10
			Sd Down	1/4
	DQ2.5/DQX	10/32,2	Déficit IgA	1/10
			DM1	3/7
			Sd Down	3/4
			Sd Turner	1
			DH	1/3
			HAI	1
			Artritis psoriásica	1
			EW	1
DQ8	DQ8/DQ8	2/ 6,4	Déficit IgA	1/10
			DM1	1/7
	DQ8/DQX	2/ 6,4	DM1	1/7
			DH	1/3

N* número de pacientes con cada EA y genotipo especificado con respecto al número total de pacientes con esa EA; Sd: síndrome; DH: dermatitis herpetiforme; DM1: diabetes mellitus tipo 1; HAI: hepatitis autoinmune; EW: enfermedad de Wilson

4.2.6.- MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA

Dadas las asociaciones existentes entre las distintas variables analizadas, efectuamos un análisis de regresión logística que considerase la posible asociación de la genética HLA con cada una de las variables introduciendo todas las variables

restantes en cada análisis. Además, empleamos este análisis para dar valores de riesgo ajustados, en caso de que fuese necesario.

Al igual que en los análisis estratificados, no se observa que el riesgo conferido por el HLA varíe en función del sexo, ni que influya sobre la presentación clínica.

El riesgo conferido por la presencia de la genética HLA de máximo riesgo (DQ2.5/DQ2.5 o DQ2.5/DQ2.2) sobre el desarrollo de anticuerpos ATG2 o EMA depende de la edad, y el riesgo ajustado por la misma es 8,1 (IC 95%=1,0-64,2) (Tabla 29).

Tabla 28.- Efecto genético sobre el desarrollo de anticuerpos ATG2/EMA tras regresión logística

	p	OR	I C 95%	
			Inferior	Inferior
DQ2.5 máximo riesgo	0,047	8,11	1,02	64,24
Edad_(<3 y ≥3 años)	0,996	9,3*10 ⁻⁹	0	-
Constante	0,998	181413,13		

El presentar genética HLA de máximo riesgo influye también sobre la presencia de lesiones histológicas más graves (Marsh 3b y Marsh 3c), confiriendo un riesgo ajustado de OR=2,5 (IC 95%=1,2-5,2) (Tabla 30).

Tabla 29.- Efecto genético sobre el desarrollo de lesiones graves (Marsh 3b y 3c) tras regresión logística

	p	OR	I C 95%	
			Inferior	Inferior
DQ2.5 máximo riesgo	0,018	2,453	1,163	5,173
Sexo	0,007	0,409	0,212	0,787
Constante	0,000	0,036		

No se observa ningún resultado significativo en los análisis restantes.

5.- DISCUSIÓN

La definición actual de EC según los nuevos criterios propuestos por la ESPGHAN en el año 2012⁴ se caracteriza por la inclusión de manifestaciones clínicas dependientes de gluten, serología específica, genética HLA y enteropatía, destacando que esta última ya no se considera imprescindible para el diagnóstico. En cambio, el estudio de los alelos HLA de riesgo cobra un papel preponderante en la aproximación diagnóstica, y se hace imprescindible en el caso de que se pretenda omitir la biopsia intestinal. Además, constituye el primer paso de cribado en el estudio de niños con EC asintomática pertenecientes a grupos de riesgo. Esto es así debido al elevado VPN de la prueba, que con un 98% de probabilidad excluye el diagnóstico en caso de no ser portador de los alelos que codifican los heterodímeros HLA-DQ2.5 o DQ8^{52,204,205}.

La influencia del HLA en el riesgo a presentar EC se conoce desde los años 70. Una década más tarde se descubrieron los alelos específicos de susceptibilidad, los cuales codifican los receptores HLA-DQ2.5 y DQ8, que se expresan en células presentadoras de antígeno y son claves en la respuesta inmunológica frente al gluten. Desde entonces, han sido muchos los estudios que han ratificado tal asociación en diferentes poblaciones, primero europeas y posteriormente a nivel mundial. Sin embargo, a pesar de los trabajos existentes, hay cuestiones que no han sido abordadas en profundidad, como las posibles implicaciones clínicas de la genética HLA de riesgo. Por otro lado, existen pocos trabajos en la literatura que describan una clasificación del riesgo genético en función de los diferentes genotipos constituidos por los distintos alelos o haplotipos HLA de riesgo, centrándose la mayoría de los trabajos publicados en el riesgo causado por el haplotipo (configuración *cis*) o el genotipo (configuración *trans*) DQ2.5, y a menudo diferenciando el riesgo según la existencia de una o dos copias del alelo *HLA-DQB1*02*, y en el haplotipo DQ8. Son escasos los estudios que hablan del papel del haplotipo DQ2.2 y DQ7.5 aislados. Además, la gradación del riesgo en función de la genética HLA debería ser calculada para cada población, dadas las diferencias geográficas en la distribución del HLA²⁰⁶ (Figura 11²⁰⁷). Así por ejemplo, la frecuencia de DQ2.2 es más frecuente en poblaciones del Sur de Europa, y la frecuencia de DQ2.5/DQ2.5 es más frecuente en los países del norte.

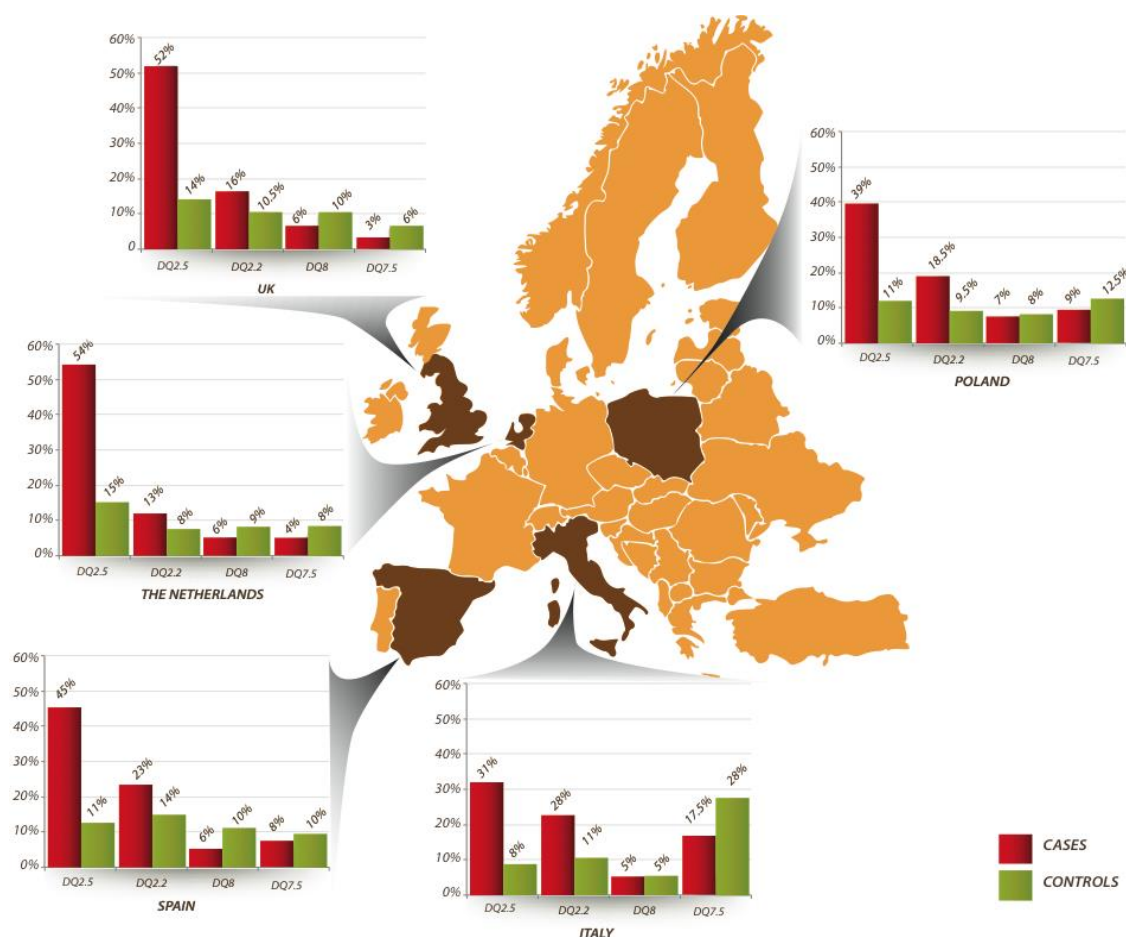


Figura 11 . Gradiente en la frecuencia de haplotipos HLA-DQ del norte al sur de Europa. Extraída de Gutiérrez-Achury et al ²⁰⁷

Nuestro trabajo se ha centrado en abordar ambas cuestiones. Por un lado pretendimos averiguar si la influencia del HLA tiene implicaciones clínicas, tanto en la forma de presentación de los síntomas y edad de comienzo de los mismos, como en los datos analíticos e histológicos que se observan al diagnóstico de la enfermedad. Para ello, realizamos un estudio observacional descriptivo partiendo de todos los niños diagnosticados de EC en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Universitario Infantil La Paz (Madrid) a lo largo de 34 años (de 1977 a 2011) que disponían de estudio genético. El primer paso consistió en la revisión de las historias clínicas para incluir solo enfermos celíacos comprobados mediante criterios clínicos, serológicos e histológicos, con 3 biopsias hasta el año 1999, y con 1 ó 2 biopsias, además de la respuesta clínica a la DSG, a partir del año 2000¹⁶³. Los pacientes con diagnóstico de enfermedad latente o potencial en el momento de la recogida de datos fueron

excluidos, puesto que no podíamos establecer con certeza el diagnóstico. Finalmente, contamos con una muestra de 475 pacientes con EC, aunque solo de 463 se obtuvieron, además de la genética HLA, las características clínicas y analíticas. Adicionalmente, empleamos una muestra de 628 controles recogidos en la misma área geográfica que los pacientes, para llevar a cabo un estudio caso-control y establecer una clasificación del riesgo a padecer EC en función de los posibles genotipos HLA en población pediátrica española.

1.- RIESGO A EC EN FUNCIÓN DE LA GENÉTICA HLA

En nuestros datos se confirma la fuerte asociación de los alelos *HLA-DQA1*05* y *HLA-DQB1*02*, que codifican el heterodímero DQ2.5, con el riesgo de desarrollar EC. Estos alelos aparecen en el 96% de los pacientes, pero tan solo en el 30% de los controles, frecuencia similar a la informada en otras series de población general^{208,209}. Ser portador del heterodímero DQ2.5 implica un riesgo mucho mayor (OR=56) al existente en ausencia de los alelos que lo codifican.

DQ2.5 con doble dosis de *HLA-DQB1*02*

En nuestra muestra, el riesgo asociado a EC en portadores de DQ2.5 con doble dosis de *HLA-DQB1*02* es 1:12, similar al descrito por Ruiz Ortiz et al.²¹⁰ en población catalana. No se detectan diferencias entre el riesgo que presentan los homocigotos DQ2.5/DQ2.5 y los heterocigotos DQ2.5/DQ2.2. Esta genética implica por tanto el riesgo máximo a EC, de acuerdo con lo ya bien establecido en la literatura. Dentro de estos portadores de doble dosis, el genotipo DQ2.5/DQ2.2 es más frecuente en casi todas las series de pacientes, en nuestro caso cercano al 30%.

El riesgo atribuido a la doble dosis del alelo *HLA-DQB1*02* en portadores de DQ2.5 es casi 4 veces superior al que presentan los portadores de DQ2.5 con dosis única, tanto DQ2.5 esté presente en configuración *cis* como *trans*. Este efecto, previamente descrito⁵³, se debe al mayor número de heterodímeros con capacidad para reconocer péptidos derivados de gluten presente en los portadores de doble dosis. Los distintos heterodímeros HLA-DQ2, DQ2.5 y DQ2.2, así como DQ8, parecen

unirse a diferentes péptidos derivados del gluten, los cuales pueden presentar distinta inmunogenicidad. Parece que los péptidos más inmunogénicos son los que presentan mayor afinidad por los receptores DQ2.5. Además, la estabilidad de la unión entre esos péptidos y los receptores HLA-DQ también parece ser diferente, lo que determina los distintos niveles de riesgo dependiendo de la genética de cada individuo.

DQ2.5 con única dosis de *HLA-DQB1*02*

Dentro de los portadores de DQ2.5 con una única copia de *HLA-DQB1*02*, en nuestra muestra un 13% del total de pacientes presentan configuración *trans*, con un riesgo de 1:35, ligeramente superior a ser portador en *cis* (1:49), lo cual ocurre en el 42% de los mismos. Aunque las diferencias no son significativas, más estudios han observado un ligero efecto mayor en portadores de DQ2.5 en *trans*²¹¹, lo que se ha sugerido que puede deberse a un factor de riesgo adicional que llevarían estos individuos con DQ2.5 en *trans* y estaría presente solo en algunos portadores de DQ2.5 en *cis*²¹².

Aunque una sola copia del alelo DQ2.5 se sabe que es suficiente para predisponer a EC, investigamos si los riesgos variaban en función de los diferentes genotipos. No observamos diferencias entre portar el haplotipo DQ2.5 junto al haplotipo DQ8, DQ7.5 u otro haplotipo sin alelos de riesgo. Esto no es lo esperable, puesto que individuos con DQ8 o DQ7.5 podrían presentar un mayor repertorio de péptidos. No obstante, concuerda con los datos extraídos del estudio realizado por Piccini et al²¹³.

DQ8

La frecuencia de portadores DQ8 en el total de los pacientes celíacos es del 6,5%, pero en el 4% de los pacientes aparece en heterocigotos DQ2.5/DQ8. Estas cifras en controles suponen el 16% del total, con el 3% presente en individuos DQ2.5/DQ8. Almeida et al²¹¹ han descrito en Brasil un riesgo de 1:19 causado por el genotipo DQ2.5/DQ8, mientras que en nuestra muestra es 1:70.

Entre los DQ2.5 negativos, los individuos DQ8 representan el grupo mayoritario, siendo el 53% de los mismos. Destaca la elevada frecuencia de los individuos homocigotos, es decir, con doble dosis de DQ8, que constituyen el 16% de los pacientes no DQ2, pero su frecuencia no llega al 1% en los controles no DQ2. El estudio de Piccini et al.²¹³ sugiere también un efecto de dosis génica con el alelo *HLA-DQB1*03:02*. Aunque sea basado en pocos pacientes, parece que la presencia del haplotipo en homocigosis debería incluirse en una categoría de riesgo alto. El bajo tamaño de muestra no permite obtener resultados significativos al comparar el riesgo conferido por la presencia de doble dosis de DQ8 ni con DQ2.5 en doble dosis ni en dosis única. Sin embargo, las OR observadas de la comparación con cada grupo (0,44 y 1,81, respectivamente) y los riesgos observados en cada categoría: 1:12 en DQ2.5 doble dosis, 1:46 en DQ2.5 dosis única y 1:25 en homocigotos DQ8, sugiere que probablemente el riesgo de los individuos DQ8/DQ8 sea intermedio entre ambos, pero más próximo a los DQ2.5 de dosis única.

Estudiamos también si el riesgo conferido por DQ8 en ausencia de DQ2.5, variaba dependiendo del otro haplotipo presente. Aunque las diferencias observadas no llegaron a ser significativas, sí observamos un riesgo ligeramente superior cuando aparecía en heterocigosis con DQ2.2 o DQ7.5. Parece que en individuos con bajo riesgo genético, la posibilidad de presentar un mayor repertorio de péptidos derivados del gluten sí supone un aumento significativo en el riesgo a desarrollar EC.

En comparación con otros estudios llama la atención que en nuestra población el riesgo conferido por el DQ8 no supera el riesgo poblacional del 1:100. Sin embargo, al igual que el resto de trabajos, la presencia de DQ8 es predominante en los celíacos que carecen de DQ2.5.

DQ2.2

En nuestra muestra de pacientes hay 7 niños que presentan el haplotipo DQ2.2 en ausencia de DQ2.5 y DQ8. Estos representan el 1,5% del total de celíacos, y el tercer genotipo de riesgo tras DQ2.5 y DQ8. En contra de lo descrito por algunos grupos^{211,214},

ningún paciente es portador de DQ2.2 en homocigosis. Por tanto, no parece que la presencia de doble dosis del alelo *HLA-DQB1*02* en ausencia de *HLA-DQA1*05* suponga un incremento del riesgo en nuestra población. Está ya establecido que el riesgo de EC asociado con el DQ2.5 y DQ2.2 es diferente^{206,215}. Se ha descrito que las células T de los pacientes portadores de DQ2.5 y DQ2.2 reconocen y seleccionan diferentes epítomos de gluten para la presentación antigénica²¹⁶, lo que hace que el riesgo no sea el mismo²¹⁷. El DQ2.5 comparte la cadena beta con el DQ2.2 y la cadena alfa con el DQ7.5. A pesar de la elevada homología entre las moléculas DQ2.5 y DQ2.2, difieren en el riesgo que confieren. El receptor DQ2.5 no solo tiene afinidad por un mayor número de péptidos derivados de gluten, sino que forma complejos más estables, favoreciendo el desencadenamiento de la respuesta inmunológica^{215,216}.

DQ7.5

Aunque pocos, algunos celíacos son DQ2/DQ8 negativos, entre estos individuos que carecen de DQ2.5, DQ8 y DQ2.2, el haplotipo más frecuente es el DQ7.5^{50,218}. El peso del haplotipo DQ7.5 en el riesgo de EC se ha determinado casi exclusivamente en presencia de DQ2.2 para producir una molécula DQ2.5 en configuración *trans*. Sin embargo, el estudio del *European Genetics Cluster on celiac disease*⁵⁰ mostró como había individuos celíacos que presentaban DQ7.5 como único factor de riesgo HLA. Esto mismo se ha puesto de manifiesto en un reciente meta-análisis incluyendo 2.212 pacientes celíacos españoles, que sitúa al DQ7.5 en el 25% de los pacientes no DQ2.5/DQ8²¹⁸. En nuestra muestra, este grupo constituye el 10,5% de ese grupo. Un estudio reciente en Italia también informa de una elevada frecuencia del haplotipo DQ7 en pacientes celíacos que carecen de DQ2.5 y DQ8²¹⁹, aunque de nuevo en ese estudio el haplotipo más frecuente tras el DQ2.5 y DQ8 era el DQ2.2, como en nuestra muestra. Los autores concluyen que el DQ7 representa un riesgo adicional o independiente con respecto a DQ2 y DQ8.

En nuestra muestra solo hay dos pacientes celíacos portadores de ese genotipo (DQ7.5/DQX), pero creemos que el haplotipo DQ7.5 no permite descartar la enfermedad cuando existen indicios claros de la misma.

A pesar de la importancia conferida al HLA en las nuevas guías de la ESPGHAN⁴, estas solo incluyen de manera explícita el riesgo causado por la presencia de los heterodímeros HLA-DQ2.5 y DQ8. Consideran que tipos HLA-DQ no convencionales no excluyen por completo el diagnóstico de EC, pero confieren el mismo peso en el diagnóstico a presentar HLA-DQ2.5 que DQ8, y no tener estudio genético realizado es similar a presentar el haplotipo HLA-DQ2.2 de forma aislada. En cuanto al alelo *HLA-DQA1*05* (que codifica el heterodímero DQ7.5), su presencia resta peso al diagnóstico de manera similar a carecer de cualquier alelo de riesgo.

Dentro de nuestros pacientes no DQ2.5, el 53% son portadores de DQ8, el 37% de DQ2.2 y el 10% de DQ7.5. No obstante, existen 2 individuos que portan DQ8 en heterozigosis con DQ2.2 y otros dos que lo portan en combinación con DQ7.5, lo que haría ascender los porcentajes de los portadores de los citados heterodímeros. Por tanto, la frecuencia de DQ2.2 es bastante alta en nuestra serie, mayor que la observada en otras poblaciones europeas. De hecho, en nuestra muestra, no se observan diferencias significativas entre portadores de DQ8 y de DQ2.2. Ello justifica que, al menos en España, el DQ2.2 deba incluirse como alelo de predisposición a EC. Lo contrario disminuiría de manera considerable el VPN de la prueba genética. La importancia del alelo *HLA-DQB1*02* en población española como determinante de riesgo ha sido previamente sugerida tras el estudio de niños catalanes ²²⁰.

En cuanto al DQ7.5 es cierto que no se observa que su presencia de forma aislada confiera riesgo en nuestra muestra pediátrica. Sin embargo, es necesario resaltar que su presencia es compatible con el desarrollo de EC. En el meta-análisis reciente en población española²¹⁸ se resalta que el 3% de los pacientes españoles carecen de los heterodímeros DQ2.5/DQ8, siendo entre ellos más frecuentes los que presentan de forma aislada DQ2.2 pero apareciendo también individuos con DQ7.5. El meta-análisis incluye pacientes con serología positiva y atrofia, por lo que esas cifras podrían ser incluso ligeramente superiores al considerar pacientes seronegativos o con lesiones histológicas más leves.

No se observa ningún niño que no presente ningún alelo asociado a EC en nuestra muestra.

Es importante resaltar que, a raíz de los criterios ESPGHAN revisados en 1999¹⁶³, el HLA se solicitaba principalmente para establecer los niños que debían someterse a una segunda y tercera biopsia. Se sometían a provocación con gluten, y por tanto a nueva toma de biopsia, a todos los niños sin genética HLA de riesgo (considerando como tales aquellos que carecían de DQ2.5 y DQ8). Por tanto, todos los niños incluidos en el estudio presentan un diagnóstico firme y consideramos que el sesgo diagnóstico debido a la genética HLA es prácticamente inexistente.

En cuanto a los individuos empleados como control, quizás no constituyan la muestra ideal para calcular el riesgo, puesto que no se han extraído de la población general, sino que corresponden a individuos sin datos de presentar enfermedades mediadas por el sistema inmunológico, por ello puede que los riesgos reales sean un poco menores. Sin embargo, dado el número de controles y la prevalencia de enfermedades inmunomediadas asociadas al *HLA-DRB1*03* o DQ2 en población general (DM 1, esclerosis múltiple, déficit de IgA, etc) la magnitud del error que se pueda haber cometido no es considerable.

2.- ASOCIACIÓN ENTRE EL HLA Y LAS VARIABLES ANALIZADAS

Existen pocos trabajos que hayan contemplado la posible influencia de la genética HLA de riesgo sobre las características clínicas, analíticas e histológicas de los pacientes, pero los resultados obtenidos justifican el desarrollo de estudios con mayor tamaño de muestra que aborden esta problemática.

SEXO

De forma histórica la EC se consideró mucho más prevalente en el sexo femenino con diferencias de hasta 3:1²²¹, aunque posteriormente aparecen referencias donde la prevalencia es la misma que en hombres²²². Por tanto, aunque se considera en general más frecuente en niñas existe controversia sobre la influencia del género en

la EC²²³. Se desconoce si existe cierta influencia hormonal por resistencia a los andrógenos, y también se describen diferencias en cuanto al título de ATG2 y el género de los pacientes, que sugieren mayor inmunorreactividad en niñas²²⁴. En España, también está descrito que es más prevalente en mujeres, con un *ratio* 4:1, pero que en parte se debe a la falta de diagnóstico de las formas no clásicas²²⁵.

En nuestra muestra predomina el sexo femenino, apareciendo en el 62% del total de pacientes. Al considerar los distintos genotipos HLA, no observamos diferencias en el porcentaje de niñas, que predomina en todos los casos. Zubillaga et al²²⁶ observaron que existe una correlación entre la homocigosis DQ2 y el sexo femenino. Megiorni et al²¹⁴ entra a valorar la asociación de la dosis génica y el sexo encontrando mayor riesgo de EC en las niñas que portan el DQ8 en doble dosis, pero otros estudios posteriores, al igual que el nuestro, no confirmaron tal asociación^{227,228}.

EDAD

La EC se diagnostica con mayor frecuencia en edad pediátrica. A pesar de que en los últimos años en otras regiones la edad de diagnóstico está aumentando²²⁹, en España la mayoría de los casos se diagnostican en torno a los 30 meses⁸⁵. Por este motivo se decidió separar a los pacientes en menores y mayores de 3 años.

La edad media de aparición de los síntomas en nuestros pacientes fue de 32 meses, similar a la hallada en otros estudios ^{85,226,230}, con un pico a los 24 meses de edad. El comienzo de los síntomas se produjo en la mayoría de los casos antes de los 3 años, con un claro predominio de la sintomatología clásica. Observamos que la edad influía también en casi todas las restantes variables analizadas, por lo que los análisis se llevaron a cabo estratificados en base a este parámetro, separando a los pacientes en menores y mayores de 3 años.

En relación al HLA, encontramos que la sintomatología se observaba más tardíamente en los niños que portaban DQ8, ya fuese en combinación o no con otros haplotipos de riesgo. En la literatura, se han descrito diferencias en la edad de comienzo asociadas a la doble dosis de *HLA-DQB1*02*^{57,226,231-233}, aunque no en todos

los estudios^{228,234,235}. Nuestros resultados, sin observar lo mismo, parecen también indicar que presentar menos riesgo genético puede conducir a un debut más tardío.

A la hora de la recogida de datos, se ha considerado como edad de diagnóstico el momento en que el paciente consulta por primera vez. Teniendo presentes las limitaciones y sesgos inherentes a ser un estudio retrospectivo, nos pareció que este dato se aproxima de forma más precisa, en la mayoría de los casos, al momento en el que los pacientes presentaron los primeros síntomas. No se ha considerado la edad en la fecha de la biopsia como consideran otros estudios, sobre todo en adultos, ya que esto puede conducir a un retraso en el diagnóstico, que puede estar influenciado por otros factores independientes. Además tras el seguimiento se comprobó el diagnóstico en todos los pacientes, y por tanto la remisión de los síntomas.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

A diferencia del diagnóstico en la edad adulta, en la edad pediátrica predominan las formas sintomáticas⁸⁵, aunque como es conocido, es una enfermedad infradiagnosticada también en los niños, calculándose que están diagnosticados 1 de cada 3 niños^{14,15}. Dentro de la edad pediátrica, los niños más pequeños presentan sintomatología clásica evidente con mayor frecuencia^{85,230}. Este hecho se confirma en nuestra serie.

En relación con el HLA, algunos estudios^{226,232} afirman que la doble dosis de *HLA-DQB1*02* se asocia con mayor gravedad en la presentación inicial, pero el resto de los estudios que ofrecen datos acerca de la influencia del HLA en la presentación^{213,227,234-236} no encuentran diferencias acerca de que la dosis génica se asocie con mayor incidencia de sintomatología clásica, como tampoco sucede en nuestro estudio. Esto podría deberse a diferentes gradaciones de las categorías de riesgo entre los diferentes autores, o bien a distintas interpretaciones de la presentación clínica y severidad de los síntomas.

Un posible sesgo de nuestro estudio es que existe un 15% de pacientes en los que la enfermedad no se detectó por sintomatología clásica, sino por otros síntomas

considerados antiguamente no clásicos (anemia, estreñimiento, etc) o por pertenecer a un grupo de riesgo. Por tanto la mayoría de nuestros pacientes fueron “sintomáticos”, y muy probablemente quede un porcentaje elevado sin diagnosticar en el caso de que, como parece lógico, un elevado porcentaje de los enfermos sin diagnóstico sean aquellos con sintomatología no clásica.

SEROLOGÍA

Desde hace años se relaciona el título de ATG2 con el grado de daño histológico en la EC²³⁷. Los pacientes con ATG2 > 100 tienen al menos un grado de lesión Marsh 2, y posteriormente han aparecido estudios tanto prospectivos²³⁸ como retrospectivos²³⁹, en los que la correlación es del 100% entre el título de ATG2 y el diagnóstico de EC confirmado por biopsia.

En nuestros pacientes, todos celíacos confirmados mediante biopsia y evolución clínica, el porcentaje de positividad de ATG2 fue del 95%, o del 98% si consideramos aquellos en que el EMA resultó positivo. Además, más del 40% de los casos de ATG2 mayor de 100UI/ml se corresponden con Marsh 3c, sin ser estadísticamente significativo. Solo dos pacientes fueron seronegativos, en los que la biopsia fue indicada por la edad y clínica de presentación, y evolutivamente confirmados como celíacos. Este hecho está en consonancia con los datos publicado en algunos estudios, acerca de la mayor incidencia de falsos negativos de la serología en EC de debut en menores de 2 años^{240,241}.

Los EMA, al ir dirigidos contra el mismo antígeno, se utilizan en los estudios como métodos de validación de los valores de ATG2²⁴². En nuestra serie, al igual que sucedía con ATG2, la positividad es del 90%, pero asciende al 98% si consideramos los que tienen ATG2 positivo, y su relación con grados severos de lesión vellositaria es similar a ATG2, también sin alcanzar significación. Dada la similitud entre ambos marcadores desde el punto de vista diagnóstico, y que en nuestra muestra fueron determinados en un subconjunto diferente de pacientes, en los análisis posteriores decidimos considerarlos juntos.

En relación con el HLA Hoffenberg et al²⁰⁸, Nenna et al²³² y Liu et al²³⁶ analizan el efecto de la dosis génica sobre la presencia de ATG2 y asocian el estado portador homocigoto de DQ2 con un título mayor de ATG2. En nuestra muestra observamos que presentar genética de máximo riesgo, es decir, DQ2.5 con doble dosis de *HLA-DQB1*02*, conduce a una mayor probabilidad de desarrollar ATG2, además llama la atención la influencia de la edad. El efecto se observa solo en niños con presentación anterior a los 3 años. Hay que destacar que ese es el grupo más numeroso y ello, unido a la menor presencia de ATG2 en niños menores, permite tener un tamaño de muestra adecuado para abordar esta problemática con mayor rigor en ese grupo.

El estudio de Murray²³⁵ no valora la asociación de ATG2 con HLA, sino solo con EMA, al seleccionar los casos de EC en base a tener un título EMA positivo. En cualquier caso, no encuentra asociación entre el título de EMA y el ser portador de un genotipo de alto riesgo. Halu Akar et al²²⁷ tampoco encuentran mayor asociación.

Aunque actualmente la serología AGA se considera inespecífica para el diagnóstico de EC, nosotros analizamos esta variable al ser pacientes estudiados desde el año 1996, cuando sí se realizaba. Algunos autores creen que los AGA son los primeros Ac en aparecer y, por tanto, más sensibles en los pacientes de menor edad^{240,243}. En nuestro estudio el resultado positivo es más frecuente en ambos grupos de edad, aunque es mayor el porcentaje en los menores de 3 años, y también observamos que el porcentaje de pacientes con anticuerpos positivos aumenta con la gravedad de la lesión. Respecto al HLA, en nuestros pacientes no se objetivan diferencias entre positividad de AGA IgA e IgG y los genotipos HLA. En la literatura se describe la influencia del HLA-DR en los títulos de AGA²⁴⁴, mayores valores con el fenotipo DR3/DR7 y DR5/DR7, lo que se correspondería con individuos con DQ2.5 (con doble dosis o con dosis única codificado en trans), pero no se corrobora en nuestro estudio.

BIOPSIA

El 90% de nuestros pacientes tienen un grado de lesión importante (Marsh 3b y Marsh 3 c) en la biopsia, que predomina en los menores de 3 años y que se relaciona con una presentación clínica más severa, como era esperable. Como ya se ha comentado previamente, observamos que con mayor título de ATG2 se observa con mayor grado de daño histológico, aunque no llega a alcanzar significación estadística.

En relación con HLA, en base a nuestros resultados podemos afirmar que presentar genética HLA de máximo riesgo aumenta significativamente el riesgo a presentar lesiones histológicas más severas. Sin embargo, existen muy pocos individuos en las categorías de bajo riesgo, y no podemos analizarlo con rigor. Otros autores ya han descrito la influencia positiva de la doble dosis de *HLA-DQB1*02* sobre la gravedad de las lesiones histológicas^{226,232,245} y otros, en cambio, no refieren asociación alguna^{210,227,235}. La influencia del sexo sobre esta asociación observada en nuestra muestra podría explicar la falta de asociación previamente encontrada.

FAMILIARIDAD

El porcentaje de pacientes con algún familiar de primer grado afectado con EC fue del 5%. A pesar del bajo número de pacientes, observamos que existía en este grupo un predominio significativo a presentar en homocigosis los principales haplotipos de riesgo, DQ2.5 y DQ8, de los cuales 2/3 estaban asintomáticos, hecho ya descrito en la literatura por el estudio TEDDY²⁴⁶. En el estudio PreventCD⁵⁷, por el contrario, la EC se desarrolló de forma más precoz y sintomática en los portadores de doble dosis de *HLA-DQB1*02*.

ENFERMEDADES ASOCIADAS

En nuestro estudio solo hay 28 pacientes con enfermedades asociadas, y nos hemos limitado a describir su genética HLA. Llama la atención que los dos pacientes con el genotipo DQ8/DQ8 debutaron sin síntomas clásicos (uno por familiaridad a los 20 meses y otro por pertenecer a un grupo de riesgo, presentar DM1, a los 12 años), pero solo de 2 pacientes no se pueden extraer resultados concluyentes.

Una limitación de nuestro estudio es el pequeño número de pacientes en algunas categorías de riesgo tras realizar ciertas estratificaciones para abordar algunos análisis. Por tanto, a pesar de que nuestro estudio es una de las series más amplias de estudio de riesgo asociado al HLA en población pediátrica, el tamaño se hace en ocasiones insuficiente para evaluar ciertas asociaciones, limitando la potencia estadística necesaria para obtener un resultado significativo. Aun así, es destacable que ha sido realizado a partir de enfermos celíacos comprobados, lo que minimiza el sesgo diagnóstico que se pueda objetivar en otros.

El motivo principal era analizar si el riesgo conferido por cada genotipo HLA era además también capaz de predecir en qué momento se desarrollaría la enfermedad y de qué forma. Obviamente gran interés de este supuesto de cara a su aplicabilidad clínica reside en los pacientes con antecedentes familiares, en los que gracias a los programas de *screening* ha aumentado la incidencia de EC, y además en los que la EC se suele diagnosticar en fase precoz y comenzando con un estudio genético. Sin embargo, no ha sido posible establecer conclusiones claras acerca de la influencia de los genotipos menos frecuentes en características clínicas o analíticas, puesto que aparecían en muy pocos pacientes. De nuestros datos se extrae que es necesario, en un futuro cercano, agrupar a estos pacientes mediante estudios multicéntricos, y así obtener tamaños de muestra adecuados para obtener resultados concluyentes. Estos genotipos menos frecuentes, algunos considerados como carentes de riesgo, cada vez se ven con más frecuencia en la práctica clínica. Es importante no perder esos “falsos negativos” que actualmente pueden estar infradiagnosticados por carecer de una genética típica.

6.- CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. La mayor predisposición genética para desarrollar EC en población pediátrica española viene determinada por los alelos que codifican el heterodímero HLA-DQ2.5, seguida de la conferida por los haplotipos HLA-DQ8 y HLA-DQ2.2, los cuales implican un riesgo similar.
2. La presencia del haplotipo HLA-DQ7.5 en ausencia de otros haplotipos HLA de riesgo, si bien hace muy improbable el desarrollo de EC, no puede emplearse para descartar su diagnóstico cuando existen otros indicios de la enfermedad.
3. Los niños con la genética HLA de máximo riesgo, determinada por la doble dosis del alelo *HLA-DQB1*02* en portadores del haplotipo HLA-DQ2.5, presentan mayor riesgo de desarrollar anticuerpos dirigidos frente a TG2 (ATG2 o EMA), con un efecto que depende de la edad.
4. La presencia de la genética HLA de máximo riesgo aumenta la probabilidad de presentar las lesiones histológicas más graves (Marsh 3b y Marsh 3c), con un efecto que se ve afectado por el sexo.
5. La homozigosis de los haplotipos HLA-DQ2.5 y HLA-DQ8 parece que aumenta el riesgo de desarrollar EC en niños con antecedentes de familiaridad en primer grado.

7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Polanco Allué, I. Estado actual del diagnóstico de la enfermedad celíaca en el niño y adolescente. *Evid En Pediatría*. 2011;7:52.
2. Green PHR, Jabri B. Coeliac disease. *Lancet Lond Engl*. 2003 Aug 2;362(9381):383–391.
3. Armstrong MJ, Robins GG, Howdle PD. Recent advances in coeliac disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2009 Mar; 25(2):100–109.
4. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Jan; 54(1):136–160.
5. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*. 1992 Jan;102(1):330–354.
6. Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*. 2002 Sep 27;297(5590):2275–2279.
7. Case S. The gluten-free diet: how to provide effective education and resources. *Gastroenterology*. 2005 Apr;128(4 Suppl 1):S128-134.
8. Libro Blanco de la Enfermedad Celíaca. Isabel Polanco (Dirección y Coordinación). Ed: ICM. Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. 2008.
9. Kilmartin C, Lynch S, Abuzakouk M, Wieser H, Feighery C. Avenin fails to induce a Th1 response in coeliac tissue following in vitro culture. *Gut*. 2003 Jan;52(1):47–52.
10. Comino I, Moreno M de L, Sousa C. Role of oats in celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2015 Nov 7;21(41):11825–11831.
11. Kurada S, Yadav A, Leffler DA. Current and novel therapeutic strategies in celiac disease. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2016 Sep;9(9):1211–1223.
12. Altobelli E, Paduano R, Petrocelli R, Di Orio F. Burden of celiac disease in Europe: a review of its childhood and adulthood prevalence and incidence as of September 2014. *Ann Ig Med Prev E Comunita*. 2014 Dec;26(6):485–498.
13. Almallouhi E, King KS, Patel B, Wi C, Juhn YJ, Murray JA, et al. Increasing Incidence and Altered Presentation in a Population-Based Study of Pediatric Celiac Disease in North America. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017 Feb 1;
14. Catassi C, Gatti S, Fasano A. The new epidemiology of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Jul;59 Suppl 1:S7-9.

15. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med*. 2010 Dec;42(8):587–595.
16. Parra-Medina R, Molano-Gonzalez N, Rojas-Villarraga A, Agmon-Levin N, Arango M-T, Shoenfeld Y, et al. Prevalence of celiac disease in latin america: a systematic review and meta-regression. *PloS One*. 2015;10(5):e0124040.
17. Farrukh A, Mayberry JF. Coeliac disease in Central and South America: time for a concerted approach to its epidemiology. *Arq Gastroenterol*. 2015 Jun;52(2):129–133.
18. Makharia GK, Verma AK, Amarchand R, Bhatnagar S, Das P, Goswami A, et al. Prevalence of celiac disease in the northern part of India: a community based study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 May;26(5):894–900.
19. Singh P, Arora S, Singh A, Strand TA, Makharia GK. Prevalence of celiac disease in Asia: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2016 Jun;31(6):1095–1101.
20. Makharia GK. Celiac disease screening in southern and East Asia. *Dig Dis Basel Switz*. 2015; 33(2):167–174.
21. Yuan J, Zhou C, Gao J, Li J, Yu F, Lu J, et al. Prevalence of Celiac Disease Autoimmunity Among Adolescents and Young Adults in China. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2017 Apr 19; doi: 10.1016/j.cgh.2017.04.025. [Epub ahead of print]
22. Gujral N, Freeman HJ, Thomson ABR. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2012 Nov 14;18(42):6036–6059.
23. Catassi C, Gatti S, Lionetti E. World perspective and celiac disease epidemiology. *Dig Dis Basel Switz*. 2015;33(2):141–146.
24. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, et al. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Nov 1;26(9):1217–1225.
25. Riestra S, Fernández E, Rodrigo L, Garcia S, Ocio G. Prevalence of Coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening. *Scand J Gastroenterol*. 2000 Apr;35(4):398–402.
26. Fernández A, González L, de-la-Fuente J. Coeliac disease: clinical features in adult populations. *Rev Espanola Enfermedades Dig Organo Of Soc Espanola Patol Dig*. 2010 Jul;102(8):466–471.
27. Ferreira Laso L, Blanco Ramos C, Montoro Huguet MÁ, Albistur Lesmes I, Alonso González L, Arizti Martín A. La enfermedad celíaca en La Rioja. *Semergen*. 2008; 34: 478-483.
28. García Novo MD, Garfia C, Acuña Quirós MD, Asensio J, Zancada G, Barrio Gutiérrez S, et al. [Prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors in the autonomous community of Madrid]. *Rev Espanola Enfermedades Dig Organo Of Soc Espanola Patol Dig*. 2007 Jun;99(6):337–342.

29. Estudio epidemiológico para determinar la Prevalencia de la Enfermedad celíaca en población en edad escolar de la Comunidad de Madrid (Estudio PRECEM). Polanco Isabel, Garrido, Mar, García Novo, Dolores , et al. Edita: Consejería de Sanidad. Depósito legal: M-4293-2009.
30. Navalón-Ramon E, Juan-García Y, Pinzón-Rivadeneira A. [Prevalence and features of coeliac disease in the Mediterranean area of Spain]. *Semergen*. 2016 Dec;42(8):514–522.
31. Cilleruelo ML, Fernández-Fernández S, Jiménez-Jiménez J, Rayo AI, de Larramendi CH. Prevalence and Natural History of Celiac Disease in a Cohort of At-risk Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016 May;62(5):739–745.
32. Barada K, Abu Daya H, Rostami K, Catassi C. Celiac disease in the developing world. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2012 Oct;22(4):773–796.
33. Lionetti E, Gatti S, Pulvirenti A, Catassi C. Celiac disease from a global perspective. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2015 Jun;29(3):365–379.
34. Ventura A, Magazù G, Gerarduzzi T, Greco L. Coeliac disease and the risk of autoimmune disorders. *Gut*. 2002 Dec;51(6):897; author reply 897-898.
35. Gale L, Wimalaratna H, Brotodiharjo A, Duggan JM. Down's syndrome is strongly associated with coeliac disease. *Gut*. 1997 Apr;40(4):492–496.
36. Ivarsson SA, Carlsson A, Bredberg A, Alm J, Aronsson S, Gustafsson J, et al. Prevalence of coeliac disease in Turner syndrome. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1999 Sep;88(9):933–936.
37. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med*. 2003 Feb 10;163(3):286–292.
38. Uenishi RH, Gandolfi L, Almeida LM, Fritsch PM, Almeida FC, Nóbrega YKM, et al. Screening for celiac disease in 1st degree relatives: a 10-year follow-up study. *BMC Gastroenterol*. 2014 Feb 20;14:36. doi: 10.1186/1471-230X-14-36
39. Rubio-Tapia A, Van Dyke CT, Lahr BD, Zinsmeister AR, El-Youssef M, Moore SB, et al. Predictors of family risk for celiac disease: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2008 Sep;6(9):983–987.
40. Dixit R, Lebwohl B, Ludvigsson JF, Lewis SK, Rizkalla-Reilly N, Green PHR. Celiac disease is diagnosed less frequently in young adult males. *Dig Dis Sci*. 2014 Jul;59(7):1509–1512.
41. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut*. 2002 May;50(5):624–628.
42. Nisticò L, Fagnani C, Coto I, Percopo S, Cotichini R, Limongelli MG, et al. Concordance, disease progression, and heritability of coeliac disease in Italian twins. *Gut*. 2006 Jun;55(6):803–808.

43. Petronzelli F, Bonamico M, Ferrante P, Grillo R, Mora B, Mariani P, et al. Genetic contribution of the HLA region to the familial clustering of coeliac disease. *Ann Hum Genet.* 1997 Jul;61(Pt 4):307–317.
44. Bevan S, Popat S, Braegger CP, Busch A, O'Donoghue D, Falth-Magnusson K, et al. Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease. *J Med Genet.* 1999 Sep;36(9):687–690.
45. Risch N. Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am J Hum Genet.* 1987 Jan;40(1):1–14.
46. Tosi R, Vismara D, Tanigaki N, Ferrara GB, Cicimarra F, Buffolano W, et al. Evidence that celiac disease is primarily associated with a DC locus allelic specificity. *Clin Immunol Immunopathol.* 1983 Sep;28(3):395–404.
47. Stokes PL, Asquith P, Holmes GK, Mackintosh P, Cooke WT. Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease. *Lancet Lond Engl.* 1972 Jul 22;2(7769):162–164.
48. Avances en la base genética de la enfermedad celíaca en población española. Bárbara Dema Jiménez. Año 2010, ISBN: 978-84-693-5979-2.
49. Taylor AK, Lebowitz B, Snyder CL, Green PH. Celiac Disease. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews*(®) [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2017 May 2]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1727/>
50. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol.* 2003 Apr;64(4):469–477.
51. Pietzak MM, Schofield TC, McGinniss MJ, Nakamura RM. Stratifying risk for celiac disease in a large at-risk United States population by using HLA alleles. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2009 Sep;7(9):966–971.
52. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2013 May;108(5):656–676; quiz 677.
53. Ploski R, Ek J, Thorsby E, Sollid LM. On the HLA-DQ(alpha 1*0501, beta 1*0201)-associated susceptibility in celiac disease: a possible gene dosage effect of DQB1*0201. *Tissue Antigens.* 1993 Apr;41(4):173–177.
54. Dieli-Crimi R, Cenit MC, Núñez C. The genetics of celiac disease: a comprehensive review of clinical implications. *J Autoimmun.* 2015 Nov; 64: 26-41.
55. Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child.* 2006 Jan;91(1):39–43.

56. Szajewska H, Chmielewska A, Pieścik-Lech M, Ivarsson A, Kolacek S, Koletzko S, et al. Systematic review: early infant feeding and the prevention of coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012 Oct;36(7):607–618.
57. Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, Castillejo G, Chmielewska A, Crespo Escobar P, et al. Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease. *N Engl J Med.* 2014 Oct 2;371(14):1304–1315.
58. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Tonutti E, Amarri S, et al. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med.* 2014 Oct 2;371(14):1295–1303.
59. Szajewska H, Shamir R, Mearin L, Ribes-Koninckx C, Catassi C, Domellöf M, et al. Gluten Introduction and the Risk of Coeliac Disease: A Position Paper by the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016 Mar;62(3):507–513.
60. Crespo-Escobar P, Mearin ML, Hervás D, Auricchio R, Castillejo G, Gyimesi J, et al. The role of gluten consumption at an early age in celiac disease development: a further analysis of the prospective PreventCD cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2017 Apr;105(4):890–896.
61. Ribes Koninckx C, Dalmau Serra J, Moreno Villares JM, Diaz Martín JJ, Castillejo de Villasanté G, Polanco Allue I. [The introduction of gluten into the infant diet. Expert group recommendations]. *An Pediatr Barc Spain* 2003. 2015 Nov;83(5):355.e1-7.
62. Lebowitz B, Green PHR, Murray JA, Ludvigsson JF. Season of birth in a nationwide cohort of coeliac disease patients. *Arch Dis Child.* 2013 Jan;98(1):48–51.
63. Tanpowpong P, Obuch JC, Jiang H, McCarty CE, Katz AJ, Leffler DA, et al. Multicenter study on season of birth and celiac disease: evidence for a new theoretical model of pathogenesis. *J Pediatr.* 2013 Mar;162(3):501–504.
64. Myléus A, Hernell O, Gothefors L, Hammarström M-L, Persson L-Å, Stenlund H, et al. Early infections are associated with increased risk for celiac disease: an incident case-referent study. *BMC Pediatr.* 2012 Dec 19;12:194.
65. Welander A, Tjernberg AR, Montgomery SM, Ludvigsson J, Ludvigsson JF. Infectious disease and risk of later celiac disease in childhood. *Pediatrics.* 2010 Mar;125(3):e530-536.
66. Bouziat R, Hinterleitner R, Brown JJ, Stencel-Baerenwald JE, Ikizler M, Mayassi T, et al. Reovirus infection triggers inflammatory responses to dietary antigens and development of celiac disease. *Science.* 2017 Apr 7;356(6333):44–50.
67. Verdu EF, Caminero A. How infection can incite sensitivity to food. *Science.* 2017 Apr 7;356(6333):29–30.
68. Sanz Y, De Pama G, Laparra M. Unraveling the ties between celiac disease and intestinal microbiota. *Int Rev Immunol.* 2011 Aug;30(4):207–218.

69. Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y. Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution? *Nutrients*. 2015 Aug 17;7(8):6900–6923.
70. Olivares M, Neef A, Castillejo G, Palma GD, Varea V, Capilla A, et al. The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease. *Gut*. 2015 Mar;64(3):406–417.
71. Mårild K, Stephansson O, Montgomery S, Murray JA, Ludvigsson JF. Pregnancy outcome and risk of celiac disease in offspring: a nationwide case-control study. *Gastroenterology*. 2012 Jan;142(1):39–45.e3.
72. García Ruiz de Morales JM, Calleja Antolín S, Nuñez Garnés A. En: Polanco Allue: Enfermedad celíaca, presente y futuro. 2ª Ed. Madrid: Ergon; 2017. Pág 51.
73. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:493–525.
74. Kumar J, Kumar M, Pandey R, Chauhan NS. Physiopathology and Management of Gluten-Induced Celiac Disease. *J Food Sci*. 2017 Feb;82(2):270–277.
75. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K, et al. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*. 2008 Jul;135(1):194–204.e3.
76. Jabri B, Sollid LM. Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nat Rev Immunol*. 2009 Dec;9(12):858–870.
77. Fina D, Sarra M, Fantini MC, Rizzo A, Caruso R, Caprioli F, et al. Regulation of gut inflammation and th17 cell response by interleukin-21. *Gastroenterology*. 2008 Apr;134(4):1038–1048.
78. du Pré MF, Sollid LM. T-cell and B-cell immunity in celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2015 Jun;29(3):413–423.
79. Koning F. Celiac disease: quantity matters. *Semin Immunopathol*. 2012 Jul;34(4):541–549.
80. Escudero-Hernández C, Peña AS, Bernardo D. Immunogenetic Pathogenesis of Celiac Disease and Non-celiac Gluten Sensitivity. *Curr Gastroenterol Rep*. 2016 Jul;18(7):36.
81. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PHR, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*. 2013 Jan;62(1):43–52.
82. Benson GD, Kowlessar OD, Sleisenger MH. Adult celiac disease with emphasis upon response to the gluten-free diet. *Medicine (Baltimore)*. 1964 Jan;43:1–40.
83. Reilly NR, Fasano A, Green PHR. Presentation of celiac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2012 Oct;22(4):613–621.

84. Dominguez Castro P, Harkin G, Hussey M, Christopher B, Kiat C, Liong Chin J, et al. Changes in Presentation of Celiac Disease in Ireland From the 1960s to 2015. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2016 Dec 31;
85. Cilleruelo ML, Roman-Riechmann E, Sanchez-Valverde F, Donat E, Manuel-Ramos J, Martín-Orte E, et al. Spanish national registry of celiac disease: incidence and clinical presentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014 Oct;59(4):522–526.
86. Abdul Sultan A, Tata LJ, Fleming KM, Crooks CJ, Ludvigsson JF, Dhalwani NN, et al. Pregnancy complications and adverse birth outcomes among women with celiac disease: a population-based study from England. *Am J Gastroenterol.* 2014 Oct;109(10):1653–1661.
87. Khashan AS, Henriksen TB, Mortensen PB, McNamee R, McCarthy FP, Pedersen MG, et al. The impact of maternal celiac disease on birthweight and preterm birth: a Danish population-based cohort study. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2010 Feb;25(2):528–534.
88. Ludvigsson JF, Montgomery SM, Ekbom A. Celiac disease and risk of adverse fetal outcome: a population-based cohort study. *Gastroenterology.* 2005 Aug;129(2):454–463.
89. Hogen Esch CE, Van Rijssen MJL, Roos A, Koning F, Dekker FW, Mearin ML, et al. Screening for unrecognized coeliac disease in subfertile couples. *Scand J Gastroenterol.* 2011 Dec;46(12):1423–1428.
90. Zugna D, Richiardi L, Akre O, Stephansson O, Ludvigsson JF. A nationwide population-based study to determine whether coeliac disease is associated with infertility. *Gut.* 2010 Nov;59(11):1471–1475.
91. Campagna G, Pesce M, Tatangelo R, Rizzuto A, La Fratta I, Grilli A. The progression of coeliac disease: its neurological and psychiatric implications. *Nutr Res Rev.* 2016 Dec 15;1–11.
92. Işıkay S, Kocamaz H. The neurological face of celiac disease. *Arq Gastroenterol.* 2015 Sep;52(3):167–170.
93. Imparato F. Celiac Disease Could Have Been the Cause of Caesar’s Epilepsy. *J Clin Gastroenterol.* 2016 Oct;50(9):797.
94. Gobbi G, Bouquet F, Greco L, Lambertini A, Tassinari CA, Ventura A, et al. Coeliac disease, epilepsy, and cerebral calcifications. The Italian Working Group on Coeliac Disease and Epilepsy. *Lancet Lond Engl.* 1992 Aug 22;340(8817):439–443.
95. de Carvalho FK, de Queiroz AM, Bezerra da Silva RA, Sawamura R, Bachmann L, Bezerra da Silva LA, et al. Oral aspects in celiac disease children: clinical and dental enamel chemical evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2015 Jun;119(6):636–643.
96. Acar S, Yetkiner AA, Ersin N, Oncag O, Aydogdu S, Arıkan C. Oral findings and salivary parameters in children with celiac disease: a preliminary study. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent.* 2012;21(2):129–133.

97. Wierink CD, van Diermen DE, Aartman IHA, Heymans HSA. Dental enamel defects in children with coeliac disease. *Int J Paediatr Dent*. 2007 May;17(3):163–168.
98. Bucci P, Carile F, Sangianantoni A, Sangianantoni A, D'Angiò F, Santarelli A, et al. Oral aphthous ulcers and dental enamel defects in children with coeliac disease. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2006 Feb;95(2):203–207.
99. Herrero-González JE. [Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of dermatitis herpetiformis]. *Actas Dermosifiliogr*. 2010 Dec;101(10):820–826.
100. Collin P, Salmi TT, Hervonen K, Kaukinen K, Reunala T. Dermatitis herpetiformis: a cutaneous manifestation of coeliac disease. *Ann Med*. 2017 Feb;49(1):23–31.
101. Salmi TT, Kurppa K, Hervonen K, Laurila K, Collin P, Huhtala H, et al. Serum transglutaminase 3 antibodies correlate with age at celiac disease diagnosis. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. 2016 Jun;48(6):632–637.
102. Lindfors K, Koskinen O, Laurila K, Collin P, Saavalainen P, Haimila K, et al. IgA-class autoantibodies against neuronal transglutaminase, TG6 in celiac disease: no evidence for gluten dependency. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2011 Jun 11;412(13–14):1187–1190.
103. Koning F. Recent insight in the pathophysiology of coeliac disease: relevance to rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2015 Aug;33(4 Suppl 92):S8-10.
104. Gheita TA, Fawzy SM, Nour El-Din AM, Gomaa HE. Asymptomatic celiac sprue in juvenile rheumatic diseases children. *Int J Rheum Dis*. 2012 Apr;15(2):220–226.
105. Skrabl-Baumgartner A, Almuthe CH, Erwa W, Jahnel J. HLA genotyping as first-line screening tool for coeliac disease in children with juvenile idiopathic arthritis. *Arch Dis Child*. 2017 23;
106. Korpimäki S, Kaukinen K, Collin P, Haapala A-M, Holm P, Laurila K, et al. Gluten-sensitive hypertransaminasemia in celiac disease: an infrequent and often subclinical finding. *Am J Gastroenterol*. 2011 Sep;106(9):1689–1696.
107. Lee GJ, Boyle B, Ediger T, Hill I. Hypertransaminasemia in Newly Diagnosed Pediatric Patients With Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016 Sep;63(3):340–343.
108. Vajro P, Paoletta G, Maggiore G, Giordano G. Pediatric celiac disease, cryptogenic hypertransaminasemia, and autoimmune hepatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013 Jun;56(6):663–670.
109. Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LLE, Saavalainen P, Koskinen O, et al. Celiac disease without villous atrophy in children: a prospective study. *J Pediatr*. 2010 Sep;157(3):373–380, 380.e1.
110. Tosco A, Salvati VM, Auricchio R, Maglio M, Borrelli M, Coruzzo A, et al. Natural history of potential celiac disease in children. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2011 Apr;9(4):320–325; quiz e36.

111. Auricchio R, Tosco A, Piccolo E, Galatola M, Izzo V, Maglio M, et al. Potential celiac children: 9-year follow-up on a gluten-containing diet. *Am J Gastroenterol*. 2014 Jun;109(6):913–921.
112. Volta U, Caio G, Giancola F, Rhoden KJ, Ruggeri E, Boschetti E, et al. Features and Progression of Potential Celiac Disease in Adults. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2016 May;14(5):686–693.e1.
113. Ludvigsson JF, Card TR, Kaukinen K, Bai J, Zingone F, Sanders DS, et al. Screening for celiac disease in the general population and in high-risk groups. *United Eur Gastroenterol J*. 2015 Apr;3(2):106–120.
114. US Preventive Services Task Force, Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Barry MJ, Davidson KW, et al. Screening for Celiac Disease: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*. 2017 28;317(12):1252–1257.
115. Singh P, Arora S, Lal S, Strand TA, Makharia GK. Risk of Celiac Disease in the First- and Second-Degree Relatives of Patients With Celiac Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol*. 2015 Nov;110(11):1539–1548.
116. Cooper GS, Bynum MLK, Somers EC. Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases. *J Autoimmun*. 2009 Dec;33(3–4):197–207.
117. Lundin KEA, Wijmenga C. Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Sep;12(9):507–515.
118. Diamanti A, Capriati T, Bizzarri C, Ferretti F, Ancinelli M, Romano F, et al. Autoimmune diseases and celiac disease which came first: genotype or gluten? *Expert Rev Clin Immunol*. 2016;12(1):67–77.
119. Gutierrez-Achury J, Coutinho de Almeida R, Wijmenga C. Shared genetics in coeliac disease and other immune-mediated diseases. *J Intern Med*. 2011 Jun;269(6):591–603.
120. Levin L, Ban Y, Concepcion E, Davies TF, Greenberg DA, Tomer Y. Analysis of HLA genes in families with autoimmune diabetes and thyroiditis. *Hum Immunol*. 2004 Jun;65(6):640–647.
121. Ventura A, Neri E, Ughi C, Leopaldi A, Città A, Not T. Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J Pediatr*. 2000 Aug;137(2):263–265.
122. Ventura A, Magazzù G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. *Gastroenterology*. 1999 Aug;117(2):297–303.
123. Toscano V, Conti FG, Anastasi E, Mariani P, Tiberti C, Poggi M, et al. Importance of gluten in the induction of endocrine autoantibodies and organ dysfunction in adolescent celiac patients. *Am J Gastroenterol*. 2000 Jul;95(7):1742–1748.

124. Oderda G, Rapa A, Zavallone A, Strigini L, Bona G. Thyroid autoimmunity in childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 Nov;35(5):704–705.
125. Hummel S, Pflüger M, Hummel M, Bonifacio E, Ziegler A-G. Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. *Diabetes Care.* 2011 Jun;34(6):1301–1305.
126. Fùchtenbusch M, Ziegler A-G, Hummel M. Elimination of dietary gluten and development of type 1 diabetes in high risk subjects. *Rev Diabet Stud RDS.* 2004;1(1):39–41.
127. Diamanti A, Ferretti F, Guglielmi R, Panetta F, Colistro F, Cappa M, et al. Thyroid autoimmunity in children with coeliac disease: a prospective survey. *Arch Dis Child.* 2011 Nov;96(11):1038–1041.
128. Spijkerman M, Tan IL, Kolkman JJ, Withoff S, Wijmenga C, Visschedijk MC, et al. A large variety of clinical features and concomitant disorders in celiac disease - A cohort study in the Netherlands. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver.* 2016 May;48(5):499–505.
129. Metso S, Hyytiä-Ilmonen H, Kaukinen K, Huhtala H, Jaatinen P, Salmi J, et al. Gluten-free diet and autoimmune thyroiditis in patients with celiac disease. A prospective controlled study. *Scand J Gastroenterol.* 2012 Jan;47(1):43–48.
130. Cosnes J, Cellier C, Viola S, Colombel J-F, Michaud L, Sarles J, et al. Incidence of autoimmune diseases in celiac disease: protective effect of the gluten-free diet. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2008 Jul;6(7):753–758.
131. Carlsson AK, Axelsson IE, Borulf SK, Bredberg AC, Lindberg BA, Sjöberg KG, et al. Prevalence of IgA-antiendomysium and IgA-antigliadin autoantibodies at diagnosis of insulin-dependent diabetes mellitus in Swedish children and adolescents. *Pediatrics.* 1999 Jun;103(6 Pt 1):1248–1252.
132. Hoffenberg EJ, MacKenzie T, Barriga KJ, Eisenbarth GS, Bao F, Haas JE, et al. A prospective study of the incidence of childhood celiac disease. *J Pediatr.* 2003 Sep;143(3):308–314.
133. Ludvigsson JF, Ludvigsson J, Ekbom A, Montgomery SM. Celiac disease and risk of subsequent type 1 diabetes: a general population cohort study of children and adolescents. *Diabetes Care.* 2006 Nov;29(11):2483–2488.
134. Leeds JS, Hopper AD, Hadjivassiliou M, Tesfaye S, Sanders DS. Potential coeliac disease in Type 1 diabetes mellitus: does a positive antibody lead to increased complications? *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD.* 2014 Apr;24(4):378–383.
135. Hansen D, Brock-Jacobsen B, Lund E, Bjørn C, Hansen LP, Nielsen C, et al. Clinical benefit of a gluten-free diet in type 1 diabetic children with screening-detected celiac disease: a population-based screening study with 2 years' follow-up. *Diabetes Care.* 2006 Nov;29(11):2452–2456.

136. Cassio A, Ricci G, Baronio F, Miniaci A, Bal M, Bigucci B, et al. Long-term clinical significance of thyroid autoimmunity in children with celiac disease. *J Pediatr*. 2010 Feb;156(2):292–295.
137. Sattar N, Lazare F, Kacer M, Aguayo-Figueroa L, Desikan V, Garcia M, et al. Celiac disease in children, adolescents, and young adults with autoimmune thyroid disease. *J Pediatr*. 2011 Feb;158(2):272–275.e1.
138. Meloni A, Mandas C, Jores RD, Congia M. Prevalence of autoimmune thyroiditis in children with celiac disease and effect of gluten withdrawal. *J Pediatr*. 2009 Jul;155(1):51–55, 55.e1.
139. van der Pals M, Ivarsson A, Norström F, Högberg L, Svensson J, Carlsson A. Prevalence of thyroid autoimmunity in children with celiac disease compared to healthy 12-year olds. *Autoimmune Dis*. 2014;2014:417356.
140. Gonzalez- Filgueira MD, De Ibarrondo Guernica- Echevarría MJ, Corretger Rouer JM. Síndrome de Down. En: H. Garcia-Sicilia Lopez. *Manual práctico de Pediatría en Atención Primaria (Hospital Universitario La Paz)* 2ª Ed. Madrid: SL Publmed,2013. pags 346-357.
141. Mårild K, Stephansson O, Grahnquist L, Cnattingius S, Söderman G, Ludvigsson JF. Down syndrome is associated with elevated risk of celiac disease: a nationwide case-control study. *J Pediatr*. 2013 Jul;163(1):237–242.
142. Gale L, Wimalaratna H, Brotodiharjo A, Duggan JM. Down's syndrome is strongly associated with coeliac disease. *Gut*. 1997 Apr;40(4):492–496.
143. Swigonski NL, Kuhlenschmidt HL, Bull MJ, Corkins MR, Downs SM. Screening for celiac disease in asymptomatic children with Down syndrome: cost-effectiveness of preventing lymphoma. *Pediatrics*. 2006 Aug;118(2):594–602.
144. Bonamico M, Pasquino AM, Mariani P, Danesi HM, Culasso F, Mazzanti L, et al. Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Dec;87(12):5495–5498.
145. Goldacre MJ, Seminog OO. Turner syndrome and autoimmune diseases: record-linkage study. *Arch Dis Child*. 2014 Jan;99(1):71–73.
146. Mårild K, Størdal K, Hagman A, Ludvigsson JF. Turner Syndrome and Celiac Disease: A Case-Control Study. *Pediatrics*. 2016 Feb;137(2):e20152232.
147. Mihçi E, Nur BG, Berker-Karaüzüm S, Yılmaz A, Artan R. Celiac disease in patients with Williams-Beuren syndrome. *Turk J Pediatr*. 2015 Dec;57(6):599–604.
148. Stagi S, Lapi E, D'Avanzo MG, Perferi G, Romano S, Giglio S, et al. Coeliac disease and risk for other autoimmune diseases in patients with Williams-Beuren syndrome. *BMC Med Genet*. 2014 May 23;15:61.
149. Giannotti A, Tiberio G, Castro M, Virgili F, Colistro F, Ferretti F, et al. Coeliac disease in Williams syndrome. *J Med Genet*. 2001 Nov;38(11):767–768.

150. Venuta A, Bertolani P, Casarini R, Ferrari F, Guaraldi N, Garetti E. [Coexistence of cystic fibrosis and celiac disease. Description of a clinical case and review of the literature]. *Pediatr Medica E Chir Med Surg Pediatr*. 1999 Oct;21(5 Suppl):223–226.
151. Walkowiak J, Blask-Osipa A, Lisowska A, Oralewska B, Pogorzelski A, Cichy W, et al. Cystic fibrosis is a risk factor for celiac disease. *Acta Biochim Pol*. 2010;57(1):115–118.
152. Ludvigsson JF, Michaelsson K, Ekbom A, Montgomery SM. Coeliac disease and the risk of fractures - a general population-based cohort study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Feb 1;25(3):273–285.
153. Lucendo AJ, García-Manzanares A. Bone mineral density in adult coeliac disease: an updated review. *Rev Espanola Enfermedades Dig Organo Of Soc Espanola Patol Dig*. 2013 Mar;105(3):154–162.
154. Larussa T, Suraci E, Imeneo M, Marasco R, Lizza F. Normal Bone Mineral Density Associates with Duodenal Mucosa Healing in Adult Patients with Celiac Disease on a Gluten-Free Diet. *Nutrients*. 2017 Jan 31;9(2).
155. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, et al. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology*. 2009 Jul;137(1):88–93.
156. Canavan C, Logan RF, Khaw K-T, West J. No difference in mortality in undetected coeliac disease compared with the general population: a UK cohort study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Oct;34(8):1012–1019.
157. Lohi S, Mäki M, Rissanen H, Knekt P, Reunanen A, Kaukinen K. Prognosis of unrecognized coeliac disease as regards mortality: a population-based cohort study. *Ann Med*. 2009;41(7):508–515.
158. Tio M, Cox MR, Eslick GD. Meta-analysis: coeliac disease and the risk of all-cause mortality, any malignancy and lymphoid malignancy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012 Mar;35(5):540–551.
159. Catassi C, Fabiani E, Corrao G, Barbato M, De Renzo A, Carella AM, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma in celiac disease. *JAMA*. 2002 Mar 20;287(11):1413–1419.
160. Elfström P, Granath F, Ye W, Ludvigsson JF. Low risk of gastrointestinal cancer among patients with celiac disease, inflammation, or latent celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2012 Jan;10(1):30–36.
161. Lebwohl B, Granath F, Ekbom A, Smedby KE, Murray JA, Neugut AI, et al. Mucosal healing and risk for lymphoproliferative malignancy in celiac disease: a population-based cohort study. *Ann Intern Med*. 2013 Aug 6;159(3):169–175.
162. Freeman HJ. Malignancy in adult celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2009 Apr 7;15(13):1581–1583.

163. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child*. 1990 Aug;65(8):909–911.
164. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Jan;40(1):1–19.
165. Nevoral J, Kotalova R, Hradsky O, Valtrova V, Zarubova K, Lastovicka J, et al. Symptom positivity is essential for omitting biopsy in children with suspected celiac disease according to the new ESPGHAN guidelines. *Eur J Pediatr*. 2013 Nov 15;
166. Gidrewicz D, Potter K, Trevenen CL, Lyon M, Butzner JD. Evaluation of the ESPGHAN Celiac Guidelines in a North American Pediatric Population. *Am J Gastroenterol*. 2015 May;110(5):760–767.
167. Smarrazzo A, Misak Z, Costa S, Mičetić-Turk D, Abu-Zekry M, Kansu A, et al. Diagnosis of celiac disease and applicability of ESPGHAN guidelines in Mediterranean countries: a real life prospective study. *BMC Gastroenterol*. 2017 Jan 21;17(1):17.
168. Castillo NE, Theethira TG, Leffler DA. The present and the future in the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterol Rep*. 2015 Feb;3(1):3–11.
169. Schuppan D, Zimmer K-P. The diagnosis and treatment of celiac disease. *Dtsch Arzteblatt Int*. 2013 Dec 6;110(49):835–846.
170. Oyaert M, Vermeersch P, De Hertogh G, Hiele M, Vandeputte N, Hoffman I, et al. Combining antibody tests and taking into account antibody levels improves serologic diagnosis of celiac disease. *Clin Chem Lab Med*. 2015 Sep 1;53(10):1537–1546.
171. Zucchini L, Giusti D, Gatouillat G, Servettaz A, Tabary T, Barbe C, et al. Interpretation of serological tests in the diagnosis of celiac disease: Anti-deamidated gliadin peptide antibodies revisited. *Autoimmunity*. 2016 Sep;49(6):414–420.
172. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med*. 1997 Jul;3(7):797–801.
173. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Feb;54(2):229–241.
174. Alessio MG, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, et al. Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Jul;55(1):44–49.
175. Singh P, Kurray L, Agnihotri A, Das P, Verma AK, Sreenivas V, et al. Titers of anti-tissue transglutaminase antibody correlate well with severity of villous abnormalities in celiac disease. *J Clin Gastroenterol*. 2015 Mar;49(3):212–217.

176. Mooney PD, Kurien M, Sanders DS. Simtomax, a novel point of care test for coeliac disease. *Expert Opin Med Diagn*. 2013 Nov;7(6):645–651.
177. Lewis NR, Scott BB. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010 Jan;31(1):73–81.
178. Polanco Allue I. Enfermedad celiaca, presente y futuro. 2ª Ed. Madrid: Ergon; 2017. Pág 3.
179. Volta U, Caio G, Boschetti E, Giancola F, Rhoden KJ, Ruggeri E, et al. Seronegative celiac disease: Shedding light on an obscure clinical entity. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. 2016 Sep;48(9):1018–1022.
180. Sergi C, Shen F, Bouma G. Intraepithelial lymphocytes, scores, mimickers and challenges in diagnosing gluten-sensitive enteropathy (celiac disease). *World J Gastroenterol*. 2017 Jan 28;23(4):573–589.
181. Sheiko MA, Feinstein JA, Capocelli KE, Kramer RE. The concordance of endoscopic and histologic findings of 1000 pediatric EGDs. *Gastrointest Endosc*. 2015;81(6):1385–1391.
182. Pai RK. A practical approach to small bowel biopsy interpretation: celiac disease and its mimics. *Semin Diagn Pathol*. 2014 Mar;31(2):124–136.
183. Marsh MN. Grains of truth: evolutionary changes in small intestinal mucosa in response to environmental antigen challenge. *Gut*. 1990 Jan;31(1):111–114.
184. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1999 Oct;11(10):1185–1194.
185. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *J Clin Pathol*. 2005 Jun;58(6):573–574.
186. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, Milione M, Luinetti O, Vindigni C, et al. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2007 Jul;5(7):838–843.
187. Fernández-Bañares F, Carrasco A, García-Puig R, Rosinach M, González C, Alsina M, et al. Intestinal intraepithelial lymphocyte cytometric pattern is more accurate than subepithelial deposits of anti-tissue transglutaminase IgA for the diagnosis of celiac disease in lymphocytic enteritis. *PloS One*. 2014;9(7):e101249.
188. De Andrés A, Camarero C, Roy G. Distal duodenum versus duodenal bulb: intraepithelial lymphocytes have something to say in celiac disease diagnosis. *Dig Dis Sci*. 2015 Apr;60(4):1004–1009.
189. Norma para productos de proteína de trigo incluido el gluten de trigo CODEX STAN 163-1987, Rev. 1-2001. Disponible en <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-standards/es/>.

190. Bascuñán KA, Vespa MC, Araya M. Celiac disease: understanding the gluten-free diet. *Eur J Nutr.* 2017 Mar;56(2):449–459.
191. Nachman F, Mauriño E, Vázquez H, Sfoggia C, Gonzalez A, Gonzalez V, et al. Quality of life in celiac disease patients: prospective analysis on the importance of clinical severity at diagnosis and the impact of treatment. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver.* 2009 Jan;41(1):15–25.
192. van Koppen EJ, Schweizer JJ, Csizmadia CGDS, Krom Y, Hylkema HB, van Geel AM, et al. Long-term health and quality-of-life consequences of mass screening for childhood celiac disease: a 10-year follow-up study. *Pediatrics.* 2009 Apr;123(4):e582–588.
193. Lee AR, Ng DL, Zivin J, Green PHR. Economic burden of a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet Off J Br Diet Assoc.* 2007 Oct;20(5):423–430.
194. Silvester JA, Weiten D, Graff LA, Walker JR, Duerksen DR. Living gluten-free: adherence, knowledge, lifestyle adaptations and feelings towards a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet Off J Br Diet Assoc.* 2016 Jun;29(3):374–382.
195. Torres JB, Román E, Cilleruelo M, Márquez M, Mearin ML, Fernández C. Health-Related Quality of Life in Spanish Children With Coeliac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016 Apr;62(4):603–608.
196. Vécsei E, Steinwendner S, Kogler H, Innerhofer A, Hammer K, Haas OA, et al. Follow-up of pediatric celiac disease: value of antibodies in predicting mucosal healing, a prospective cohort study. *BMC Gastroenterol.* 2014 Feb 13;14:28.
197. Comino I, Fernández-Bañares F, Esteve M, Ortigosa L, Castillejo G, Fambuena B, et al. Fecal Gluten Peptides Reveal Limitations of Serological Tests and Food Questionnaires for Monitoring Gluten-Free Diet in Celiac Disease Patients. *Am J Gastroenterol.* 2016 Oct;111(10):1456–1465.
198. Moreno M de L, Cebolla Á, Muñoz-Suano A, Carrillo-Carrion C, Comino I, Pizarro Á, et al. Detection of gluten immunogenic peptides in the urine of patients with coeliac disease reveals transgressions in the gluten-free diet and incomplete mucosal healing. *Gut.* 2017 Feb;66(2):250–257.
199. Ludvigsson JF, Agreus L, Ciacci C, Crowe SE, Geller MG, Green PHR, et al. Transition from childhood to adulthood in coeliac disease: the Prague consensus report. *Gut.* 2016 Aug;65(8):1242–1251.
200. Vasagar B, Cox J, Herion JT, Ivanoff E. World epidemiology of non-celiac gluten sensitivity. *Minerva Gastroenterol Dietol.* 2017 Mar;63(1):5–15.
201. Guandalini S, Polanco I. Nonceliac gluten sensitivity or wheat intolerance syndrome? *J Pediatr.* 2015 Apr;166(4):805–11.
202. Caio G, Volta U, Tovoli F, De Giorgio R. Effect of gluten free diet on immune response to gliadin in patients with non-celiac gluten sensitivity. *BMC Gastroenterol.* 2014 Feb 13;14:26.

203. Yelland GW. Gluten-induced cognitive impairment (“brain fog”) in coeliac disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017 Mar;32 Suppl 1:90–93.
204. Kaukinen K, Partanen J, Mäki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2002 Mar;97(3):695–699.
205. Peña-Quintana L, Torres-Galván MJ, Déniz-Naranjo MC, Ortigosa-Castillo L, Ramos-Varela JC, Calvo-Hernández F, et al. Assessment of the DQ heterodimer test in the diagnosis of celiac disease in the Canary Islands (Spain). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Nov;37(5):604–608.
206. Margaritte-Jeannin P, Babron MC, Bourgey M, Louka AS, Clot F, Percopo S, et al. HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue Antigens*. 2004 Jun;63(6):562–567.
207. Gutierrez-Achury J, Zhernakova A, Pulit SL, Trynka G, Hunt KA, Romanos J, et al. Fine mapping in the MHC region accounts for 18% additional genetic risk for celiac disease. *Nat Genet*. 2015 Jun;47(6):577–578.
208. Hoffenberg EJ, MacKenzie T, Barriga KJ, Eisenbarth GS, Bao F, Haas JE, et al. A prospective study of the incidence of childhood celiac disease. *J Pediatr*. 2003 Sep;143(3):308–314.
209. Romanos J, van Diemen CC, Nolte IM, Trynka G, Zhernakova A, Fu J, et al. Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology*. 2009 Sep;137(3):834–840, 840.e1-3.
210. Ruiz-Ortiz E, Montraveta M, Cabré E, Herrero-Mata MJ, Pujol-Borrell R, Palou E, et al. HLA-DQ2/DQ8 and HLA-DQB1*02 homozygosity typing by real-time polymerase chain reaction for the assessment of celiac disease genetic risk: evaluation of a Spanish celiac population. *Tissue Antigens*. 2014 Dec;84(6):545–553.
211. Almeida LM, Gandolfi L, Pratesi R, Uenishi RH, de Almeida FC, Selleski N, et al. Presence of DQ2.2 Associated with DQ2.5 Increases the Risk for Celiac Disease. *Autoimmune Dis*. 2016;2016:5409653.
212. Medrano LM, Dema B, López-Larios A, Maluenda C, Bodas A, López-Palacios N, et al. HLA and Celiac Disease Susceptibility: New Genetic Factors Bring Open Questions about the HLA Influence and Gene-Dosage Effects. *PLoS ONE* [Internet]. 2012 Oct 31 [cited 2017 May 6];7(10). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3485232/>
213. Piccini B, Vascotto M, Serracca L, Luddi A, Margollicci MA, Balestri P, et al. HLA-DQ typing in the diagnostic algorithm of celiac disease. *Rev Espanola Enfermedades Dig Organo Of Soc Espanola Patol Dig*. 2012 May;104(5):248–454.
214. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Nenna R, Maiella G, et al. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol*. 2009 Jan;70(1):55–59.

215. Fallang L-E, Bergseng E, Hotta K, Berg-Larsen A, Kim C-Y, Sollid LM. Differences in the risk of celiac disease associated with HLA-DQ2.5 or HLA-DQ2.2 are related to sustained gluten antigen presentation. *Nat Immunol.* 2009 Oct;10(10):1096–1101.
216. Bodd M, Kim C-Y, Lundin KEA, Sollid LM. T-cell response to gluten in patients with HLA-DQ2.2 reveals requirement of peptide-MHC stability in celiac disease. *Gastroenterology.* 2012 Mar;142(3):552–561.
217. Bergseng E, Dørum S, Arntzen MØ, Nielsen M, Nygård S, Buus S, et al. Different binding motifs of the celiac disease-associated HLA molecules DQ2.5, DQ2.2, and DQ7.5 revealed by relative quantitative proteomics of endogenous peptide repertoires. *Immunogenetics.* 2015 Feb;67(2):73–84.
218. Fernández-Bañares F, Arau B, Dieli-Crimi R, Rosinach M, Nuñez C, Esteve M. Systematic Review and Meta-analysis Show 3% of Patients With Celiac Disease in Spain to be Negative for HLA-DQ2.5 and HLA-DQ8. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2017 Apr;15(4):594–596.
219. Tinto N, Cola A, Piscopo C, Capuano M, Galatola M, Greco L, et al. High Frequency of Haplotype HLA-DQ7 in Celiac Disease Patients from South Italy: Retrospective Evaluation of 5,535 Subjects at Risk of Celiac Disease. *PloS One.* 2015;10(9):e0138324.
220. Delgado JF, Amengual MJ, Veraguas A, Rodríguez E, de Los Santos MM, Guallarte MP. Paediatric celiac patients carrying the HLA-DR7-DQ2 and HLA-DR3-DQ2 haplotypes display small clinical differences. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2014 Jun;103(6):e238-242.
221. Ciacci C, Cirillo M, Sollazzo R, Savino G, Sabbatini F, Mazzacca G. Gender and clinical presentation in adult celiac disease. *Scand J Gastroenterol.* 1995 Nov;30(11):1077–1081.
222. Bai D, Brar P, Holleran S, Ramakrishnan R, Green PHR. Effect of gender on the manifestations of celiac disease: evidence for greater malabsorption in men. *Scand J Gastroenterol.* 2005 Feb;40(2):183–187.
223. Nussinovitch U, Shoenfeld Y. The role of gender and organ specific autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2012 May;11(6–7):A377-385.
224. Tiberti C, Bao F, Bonamico M, Verrienti A, Picarelli A, Di Tola M, et al. Celiac disease-associated transglutaminase autoantibody target domains at diagnosis are age and sex dependent. *Clin Immunol Orlando Fla.* 2003 Dec;109(3):318–324.
225. Llorente-Alonso MJ, Fernández-Acenero MJ, Sebastián M. Gluten intolerance: sex and age-related features. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol.* 2006 Nov;20(11):719–722.
226. Zubillaga P, Vidales MC, Zubillaga I, Ormaechea V, García-Urkía N, Vitoria JC. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 genetic markers and clinical presentation in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 May;34(5):548–554.
227. Akar HH, Yıldız M, Sevinc E, Sokucu S. The influence of HLA-DQ2 heterodimers on the clinical features and laboratory of patients with celiac disease. *Nutr Hosp.* 2015 Dec 1;32(6):2594–2599.

228. Liu E, Dong F, Barón AE, Taki I, Norris JM, Frohnert BI, et al. High Incidence of Celiac Disease in a Long-term Study of Adolescents With Susceptibility Genotypes. *Gastroenterology*. 2017 May;152(6):1329–1336.e1.
229. McGowan KE, Castiglione DA, Butzner JD. The changing face of childhood celiac disease in north america: impact of serological testing. *Pediatrics*. 2009 Dec;124(6):1572–1578.
230. Mišak Z, Hojsak I, Jadrešin O, Kekez AJ, Abdović S, Kolaček S. Diagnosis of coeliac disease in children younger than 2 years. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013 Feb;56(2):201–205.
231. Congia M, Cucca F, Frau F, Lampis R, Melis L, Clemente MG, et al. A gene dosage effect of the DQA1*0501/DQB1*0201 allelic combination influences the clinical heterogeneity of celiac disease. *Hum Immunol*. 1994 Jun;40(2):138–142.
232. Nenna R, Mora B, Megiorni F, Mazzilli MC, Magliocca FM, Tiberti C, et al. HLA-DQB1*02 dose effect on RIA anti-tissue transglutaminase autoantibody levels and clinicopathological expressivity of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008 Sep;47(3):288–292.
233. Fernández-Cavada-Pollo MJ, Alcalá-Peña MI, Vargas-Pérez ML, Vergara-Prieto E, Vallcorba-Gómez-Del Valle I, Melero-Ruiz J, et al. Celiac disease and HLA-DQ genotype: diagnosis of different genetic risk profiles related to the age in Badajoz, southwestern Spain. *Rev Espanola Enfermedades Dig Organo Of Soc Espanola Patol Dig*. 2013 Sep;105(8):469–476.
234. Greco L, Percopo S, Clot F, Bouguerra F, Babron MC, Eliaou JF, et al. Lack of correlation between genotype and phenotype in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998 Mar;26(3):286–290.
235. Murray JA, Moore SB, Van Dyke CT, Lahr BD, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, et al. HLA DQ gene dosage and risk and severity of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2007 Dec;5(12):1406–1412.
236. Liu E, Lee H-S, Aronsson CA, Hagopian WA, Koletzko S, Rewers MJ, et al. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. *N Engl J Med*. 2014 Jul 3;371(1):42–49.
237. Barker CC, Mitton C, Jevon G, Mock T. Can tissue transglutaminase antibody titers replace small-bowel biopsy to diagnose celiac disease in select pediatric populations? *Pediatrics*. 2005 May;115(5):1341–1346.
238. Mubarak A, Wolters VM, Gmelig-Meyling FHJ, Ten Kate FJW, Houwen RHJ. Tissue transglutaminase levels above 100 U/mL and celiac disease: a prospective study. *World J Gastroenterol*. 2012 Aug 28;18(32):4399–4403.
239. Donaldson MR, Book LS, Leiferman KM, Zone JJ, Neuhausen SL. Strongly positive tissue transglutaminase antibodies are associated with Marsh 3 histopathology in adult and pediatric celiac disease. *J Clin Gastroenterol*. 2008 Mar;42(3):256–260.

Capítulo 7.- Referencias bibliográficas

240. Maglio M, Tosco A, Paparo F, Auricchio R, Granata V, Colicchio B, et al. Serum and intestinal celiac disease-associated antibodies in children with celiac disease younger than 2 years of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010 Jan;50(1):43–48.
241. Mubarak A, Wolters VM, Gerritsen SAM, Gmelig-Meyling FHJ, Ten Kate FJW, Houwen RHJ. A biopsy is not always necessary to diagnose celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2011 May;52(5):554–557.
242. Alessio MG, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, et al. Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012 Jul;55(1):44–49.
243. Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T, Jidell E, Juto P, Olcén P, et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008 Oct;47(4):428–435.
244. Mearin ML, Koninckx CR, Biemond I, Polanco I, Peña AS. Influence of genetic factors on the serum levels of antigliadin antibodies in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1984 Jun;3(3):373–377.
245. Karinen H, Kärkkäinen P, Pihlajamäki J, Janatuinen E, Heikkinen M, Julkunen R, et al. Gene dose effect of the DQB1*0201 allele contributes to severity of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2006 Feb;41(2):191–199.
246. Agardh D, Lee H-S, Kurppa K, Simell V, Aronsson CA, Jörneus O, et al. Clinical features of celiac disease: a prospective birth cohort. *Pediatrics.* 2015 Apr;135(4):627–634.

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

1.- TABLAS

Tabla 1.- Presentación clínica (Criterios de Oslo).....	17
Tabla 2.- Clasificación EC.....	18
Tabla 3.- Nomenclatura respecto al gluten.....	18
Tabla 4.- Edad y síntomas.....	22
Tabla 5.- Enfermedades asociadas.....	26
Tabla 6.- Riesgo calculado en función del genotipo HLA	56
Tabla 7.- Variación del riesgo en función de la prevalencia de EC.....	61
Tabla 8.- Clasificación de riesgo propuesta en función del genotipo HLA	62
Tabla 9.- Frecuencia de los distintos genotipos HLA en nuestra muestra de pacientes celíacos	63
Tabla 10.- Frecuencia de pacientes mostrando los distintos niveles de ATG2	67
Tabla 11.- Frecuencia del grado de lesión histológica objetivado	68
Tabla 12.- Variables asociadas a la edad de aparición de los síntomas	69
Tabla 13.- Asociación entre sexo y grado de lesión vellositaria, estratificado por edad	70
Tabla 14.- Asociación entre presentación clínica y grado de lesión vellositaria, estratificado por edad.....	71
Tabla 15.- Asociación entre positividad ATG2/EMA y título de ATG2 con lesión histológica	72
Tabla 16.- Asociación entre AGA IgA y AGA IgG con lesión histológica	73
Tabla 17.- Asociación entre presentación clínica y positividad de AGA IgA	74
Tabla 18.- Asociación entre presentación clínica y positividad de AGA IgG	74
Tabla 19.- Asociación entre HLA y edad.....	75
Tabla 20.- Asociación entre HLA y sexo, estratificada por edad	76
Tabla 21.- Asociación entre HLA y presentación clínica, estratificada por edad	77
Tabla 22.- Asociación entre HLA y positividad de ATG2/EMA, estratificada por edad	78

Índice de tablas y figuras

Tabla 23.- Asociación entre HLA y título de ATG2.....	79
Tabla 24.- Asociación entre HLA y positividad de AGA IgA estratificada por edad.....	80
Tabla 25.- Asociación entre HLA y positividad de AGA IgG estratificada por edad	81
Tabla 26.- Relación entre HLA y grado de lesión histológica	82
Tabla 27.- Distribución de los haplotipos HLA de riesgo en pacientes con familiaridad	83
Tabla 28.- Efecto genético sobre el desarrollo de anticuerpos ATG2/EMA tras regresión logística	85
Tabla 29.- Efecto genético sobre el desarrollo de lesiones graves (Marsh 3b y 3c) tras regresión logística	85

2.- ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de enfermedad celiaca.	5
Figura 2. Prevalencia de enfermedad celíaca en la Comunidad de Madrid (año 2008).	5
Figura 3. Representación simplificada de los genes en el complejo HLA.	8
Figura 4. Representación de los heterodímeros más frecuentes en enfermedad celiaca.....	9
Figura 5.-Figura explicativa de la patogénesis de la EC.....	16
Figura 6.- Frecuencia (%) de los genotipos HLA-DQ en celíacos (EC) y controles.....	55
Figura 7-. Diagrama de sectores mostrando los distintos genotipos HLA de riesgo en nuestra muestra de pacientes celíacos.	64
Figura 8.-Diagrama de sectores mostrando la distribución por sexo en nuestra muestra de pacientes celíacos.	64
Figura 9.- Distribución por edad de aparición de los síntomas en meses de los pacientes celíacos estudiados.	65
Figura 10.- Diagrama de sectores mostrando la forma de presentación clínica en nuestra muestra de pacientes celíacos.	66
Figura 11 . Gradiente en la frecuencia de haplotipos HLA-DQ del norte al sur de Europa.....	90